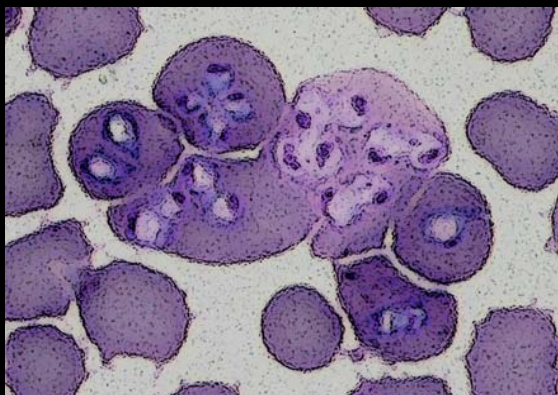




UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS VETERINARIAS



ESTUDIO CLÍNICO, LABORATORIAL Y ECOGRÁFICO DE LA BABESIOSIS CANINA EN GALICIA

Eduardo Fraga Manteiga

Lugo, 2009

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS VETERINARIAS



**ESTUDIO CLÍNICO, LABORATORIAL Y ECOGRÁFICO
DE LA BABESIOSIS CANINA EN GALICIA**

MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL
GRADO DE DOCTOR POR EL LICENCIADO
D. EDUARDO FRAGA MANTEIGA.

LUGO, OCTUBRE DE 2009



UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS VETERINARIAS

FACULTAD DE VETERINARIA

Campus Universitario s/n.

27002 Lugo (España)

ANA GOICOA VALDEVIRA y ANDRÉS BARREIRO LOIS, profesores titulares del Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias de la Universidad de Santiago de Compostela

INFORMAN:

Que el trabajo de Investigación presentado por el Licenciado en Veterinaria D. Eduardo Fraga Manteiga, con título “Estudio clínico, laboratorio y ecográfico de la babesiosis canina en Galicia”, ha sido realizado bajo nuestra dirección en el Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias y consideramos que cumple todos los requisitos para optar al grado de Doctor.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente informe en Lugo, a siete de octubre de dos mil nueve.

Fdo.: Ana Goicoa Valdevira

Fdo.: Andrés Barreiro Lois

Esta Tesis Doctoral ha sido realizada merced a la concesión de un contrato predoctoral de formación de doctores (Programa María Barbeito) por parte de la Consellería de Innovación e Industria de la Xunta de Galicia, dentro del Programa de Recursos Humanos del Plan Gallego de I+D+i.

A MIS PADRES Y A MI HERMANO

A GEMMA

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que de algún modo han colaborado para hacer realidad esta Tesis Doctoral y de una manera muy especial:

A mis directores, los profesores Ana Goicoa Valdevira y Andrés Barreiro Lois, por su apoyo incondicional y por dedicarme todo su tiempo, siendo su labor de orientación y supervisión fundamental para la realización de este trabajo.

Al doctor Luciano Espino López por su apoyo, paciencia y sus continuas ganas por ayudarme pero, sobre todo, por su gran amistad.

A mis compañeros del Servicio de Diagnóstico por Imagen José Daniel Barreiro Vázquez, Mónica Vila Pastor y Alicia Seoane Mojón por compartir conmigo tantas horas delante del ecógrafo y porque, simplemente, sin su ayuda este trabajo no sería posible.

A la doctora Cristina Carrera González por su inestimable ayuda en el laboratorio y por estar siempre ahí, apoyándome y ayudándome todos los días tanto dentro como fuera del Hospital. Este trabajo ha sido más fácil gracias a su optimismo y amistad.

Al profesor Luis Eusebio Fidalgo Álvarez, por acompañarme activamente durante todos mis estudios de tercer ciclo y por su buena disposición en todo momento a la hora de resolver cada uno de los problemas surgidos en este largo camino.

A la profesora María Luisa Suárez Rey y al profesor Germán Santamarina Pernas que siempre han sido un referente para mí, quisiera agradecerles su constante ayuda y enseñanzas de inestimable valía.

A los profesores Antonio González Cantalapiedra, Marta Miranda Castañón, Ana López Beceiro y Lucas Rigueira Rey y a los doctores Natalia Miño Fariña, Óscar Varela López y Mariano López García por su gran apoyo, tanto humano como profesional.

También quiero dar las gracias al Hospital Veterinario Universitario Rof Codina, en la persona de su Director Gerente D. Luis Felipe de la Cruz Palomino, porque siempre han puesto a mi disposición toda la infraestructura que he necesitado.

Al Departamento Clínico Veterinario de la Facoltà di Medicina Veterinaria di Bologna (Università di Bologna) y al Servicio de Diagnóstico por Imagen del Hospital for Small Animals of the Royal (Dick) School of Veterinary Studies (University of Edinburgh), especialmente a los profesores Marco Pietra, Mairi Frame y Tobias Schwarz, por coordinar mis estancias en estas Universidades para que pudiese completar esta Tesis con una visión clínica magnífica.

A la Consellería de Innovación e Industria de la Xunta de Galicia, cuyas becas fueron indispensables para la realización de mis estancias en Italia y en el Reino Unido.

A Javi, por su gran amistad y apoyo desde que empezamos la carrera y por las risas y el buen ambiente que hemos vivido en el trabajo, que han hecho que esta Tesis fuese mucho más sencilla y llevadera.

A Isa y a Javi Caruncho, doctora y futuro doctor con los he compartido esta dura pero al mismo tiempo bonita experiencia.

A todos los residentes, facultativos y resto del personal con los que he coincidido en el HVV-Rof Codina, porque de alguna forma, todos han participado en este trabajo.

A todos los amigos con los que he compartido estos años en la Universidad: Miguel, Arkaitz, David, Rodri, Pombo, Isi, Fany, Isa, Daniela, Azahara, Fer, Suso, David "Furby", Jesús, Jérica, Mar, Nuria, Iago, Noelia, Cris, Susi, Ana y Carlos. Estoy seguro de que vosotros, la mayoría de las personas a las que ya he citado, alguna que posiblemente me he olvidado (lo siento si es así) y la más especial, que citaré a continuación (lo bueno siempre se hace esperar), sois lo mejor que me llevo de estos casi 10 años de vida en Lugo.

A Gemma, por apoyarme y ayudarme cada día, aunque en los últimos dos años nos separen cerca de 2000 km. Gracias por contagiarme al menos una pequeña parte de esa enorme capacidad que tienes tanto para el estudio como para el trabajo, sinceramente, sino lo hubiese vivido, creo que no me lo habría creído.

A mis padres y a Dani por ser imprescindibles tanto en este trabajo como en todo lo que he hecho en mi vida. Con ellos a mi lado todo es mucho más fácil.

A mis tíos, primos y, muy especialmente, a mis abuelos.



ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS UTILIZADOS:

- **ADN:** ácido desoxirribonucleico
- **ACTH:** hormona adrenocorticotropa
- **AHI:** anemia hemolítica inmunomediada
- **α -HBDH:** α -hidroxibutirato dehidrogenasa
- **ALP:** fosfatasa alcalina
- **ALT:** alanina aminotransferasa
- **ARNr:** ácido ribonucleico ribosómico
- **AST:** aspartato aminotransferasa
- ***B:*** *Babesia*
- **BILT:** bilirrubina total
- **BUN:** nitrógeno ureico en sangre
- **CID:** coagulación intravascular diseminada
- **CK:** creatín quinasa
- **CK-MB:** mioglobina isoenzima de creatín quinasa
- **cm:** centímetro
- **CMF:** citometría de flujo
- **CPK:** creatín fosfoquinasa
- **CREA:** creatinina
- **cTnI:** troponina I
- **cTnT:** troponina T
- **DT:** desviación típica
- **ECG:** electrocardiograma
- **EDTA:** ácido etilendiaminotetraacético
- **ELISA:** ensayo inmunoenzimático absorbente
- **EPO:** eritropoyetina
- **ET:** error típico
- ***et al.:*** y otros
- **FC:** fijación de complemento
- **fL:** femtolitros
- **GGT:** γ -glutamyl-transpeptidasa
- **g.l.:** grados de libertad
- **GLU:** glucosa
- **GR:** glóbulo rojo
- **Hb:** hemoglobina
- **Hct:** valor hematocrito
- **HDO:** oscilometría de alta definición
- **IDH:** índice de destrucción de hematíes
- **IFI:** inmunofluorescencia indirecta
- **Ig:** inmunoglobulina (IgA, IgE, IgG, IgM)
- **IM:** intramuscular

- **IP:** índice de pulsatilidad
- **IQR:** amplitud intercuartil
- **IR:** índice de resistencia
- **IRA:** insuficiencia renal aguda
- **IRC:** insuficiencia renal crónica
- **IV:** intravenosa
- **kDa:** kilodalton
- **Kg:** kilogramo
- **LDH:** lactato deshidrogenasa
- **LDL:** lipoproteína de baja densidad
- **LED:** diodo emisor de luz
- **Máx:** máximo
- **MCH:** hemoglobina corpuscular media
- **MCHC:** concentración corpuscular media de hemoglobina
- **MCV:** volumen corpuscular medio
- **m:** metro
- **min:** minuto
- **Mín:** mínimo
- **mmHg:** milímetros de mercurio
- **ml:** mililitro
- **MPV:** volumen plaquetario medio
- **nº:** número
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud
- **PA:** Presión arterial
- **PDF:** productos de degradación de la fibrina
- **PDW:** ancho de distribución plaquetaria
- **pg:** picogramos
- **PT:** proteínas totales
- **PVC:** presión venosa central
- **®:** marca registrada
- **RBC:** recuento de eritrocitos
- **RD:** Real Decreto
- **RDW:** ancho de distribución eritrocitaria
- **rpm:** revoluciones por minuto
- **s:** segundo
- **SC:** subcutánea
- **SDMO:** síndrome de disfunción multiorgánica
- **SDRA:** síndrome de dificultad respiratoria aguda
- **Sig:** significación
- **sp:** especie
- **SPA:** antígenos parasitarios solubles
- **spp:** especies
- **SRIS:** síndrome de respuesta inflamatoria sistémica
- **T4:** tiroxina
- **Tª:** temperatura
- **UI:** unidades internacionales
- **VLDL:** lipoproteína de muy baja densidad
- **VO:** vía oral
- **WBC:** recuento de leucocitos



ÍNDICES

ÍNDICES

I. ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA.....	3
2. OBJETIVOS.....	9
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	13
3.1. BABESIOSIS CANINA	13
3.1.1. MORFOLOGÍA DEL GÉNERO <i>Babesia</i>	13
3.1.2. ETIOLOGÍA: <i>Babesia canis</i>	14
3.1.3. CICLO BIOLÓGICO DE <i>Babesia spp.</i>	15
3.1.4. TRANSMISIÓN DE <i>Babesia spp.</i>	17
3.1.4.1. LAS GARRAPATAS	19
3.1.5. EPIDEMIOLOGÍA.....	20
3.1.6. FISIOPATOGENIA.....	22
3.1.6.1. CLASIFICACIÓN DE LA BABESIOSIS CANINA.....	25
3.1.6.1.1. BABESIOSIS NO COMPLICADA	25
3.1.6.1.2. BABESIOSIS COMPLICADA.....	26
3.1.6.2. COMPLICACIONES MÁS FRECUENTES DE LA BABESIOSIS CANINA	27
3.1.6.2.1. FALLO RENAL AGUDO	28
3.1.6.2.2. ALTERACIONES HEPÁTICAS	30

3.1.6.2.3. COAGULOPATÍAS Y COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA (CID)	31
3.1.6.2.4. ANEMIA HEMOLÍTICA INMUNOMEDIADA (AHI)	33
3.1.6.2.5. EDEMA PULMONAR	35
3.1.6.2.6. HEMOCONCENTRACIÓN	37
3.1.6.2.7. ALTERACIONES CARDIOCIRCULATORIAS	37
3.1.6.2.8. PANCREATITIS AGUDA.....	39
3.1.6.2.9. BABESIOSIS CEREBRAL	40
3.1.6.2.10. SHOCK.....	41
3.1.6.3. SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA (SRIS) Y SÍNDROME DE DISFUNCIÓN MULTIORGÁNICA (SDMO).....	42
3.1.7. CUADRO CLÍNICO	43
3.1.8. PRUEBAS LABORATORIALES.....	45
3.1.8.1. HEMATOLOGÍA Y PRUEBAS DE COAGULACIÓN.....	45
3.1.8.2. BIOQUÍMICA SÉRICA	48
3.1.9. DIAGNÓSTICO	53
3.1.10. TERAPÉUTICA	56
3.1.10.1. TRATAMIENTO BABESICIDA	57
3.1.10.2. TRATAMIENTO SINTOMÁTICO	61
3.1.11. PREVENCIÓN	63
3.1.11.1. QUIMIOPROFILAXIS	63
3.1.11.2. VACUNACIÓN	64
3.1.11.3. CONTROL DE LAS TRANSFUSIONES SANGUÍNEAS	65
3.2. PRESIÓN ARTERIAL	67
3.2.1. DEFINICIÓN.....	67
3.2.2. MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL EN EL PERRO	67
3.2.3. TÉCNICAS DE MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	68
3.2.3.1. VIGILANCIA NO INVASIVA (INDIRECTA) DE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	69
3.2.3.1.1. MÉTODO OSCILOMÉTRICO	70
3.2.3.1.2. MÉTODO ULTRASÓNICO (MÉTODO DOPPLER).....	73
3.2.3.2. VIGILANCIA INVASIVA (DIRECTA) DE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	75
3.2.4. VALORES NORMALES DE LA PRESIÓN ARTERIAL Y POSIBLES CAUSAS DE HIPERTENSIÓN E HIPOTENSIÓN.....	76
3.2.5. EVALUACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL EN PERROS CON BABESIOSIS.....	81
3.3. ECOGRAFÍA.....	83
3.3.1. DESARROLLO DE LA ECOGRAFÍA COMO TÉCNICA DIAGNÓSTICA.....	83
3.3.2. PRINCIPIOS FÍSICOS DE LA ECOGRAFÍA.....	84

3.3.3. MODOS DE PRESENTACIÓN ECOGRÁFICA	86
3.3.4. EQUIPOS DE ECOGRAFÍA.....	88
3.3.4.1. TRANSDUCTORES	88
3.3.5. INTERPRETACIÓN DE LA IMAGEN	91
3.3.5.1. ARTEFACTOS.....	92
3.3.6. ECOGRAFÍA DOPPLER DÚPLEX.....	96
3.3.6.1. PRINCIPIOS FÍSICOS DEL DOPPLER.....	97
3.3.6.1.1. ECOGRAFÍA DOPPLER DE ONDA PULSADA.....	99
3.3.6.1.2. ECOGRAFÍA DOPPLER DE ONDA CONTINUA	99
3.3.6.2. INTERPRETACIÓN DE LA REPRESENTACIÓN ESPECTRAL DEL DOPPLER	100
3.3.6.2.1. FLUJO DE DOPPLER COLOR.....	102
3.3.7. REALIZACIÓN DE LA ECOGRÁFICA ABDOMINAL EN EL PERRO	103
3.3.7.1. PREPARACIÓN DEL PACIENTE.....	103
3.3.7.2. DINÁMICA DE EXPLORACIÓN	105
3.3.8. TÉCNICA DE EXPLORACIÓN Y VALORACIÓN DE ÓRGANOS.....	105
3.3.8.1. BAZO.....	105
3.3.8.1.1. ANATOMÍA NORMAL Y ASPECTO ECOGRÁFICO DEL BAZO.....	106
3.3.8.1.2. ALTERACIONES PATOLÓGICAS DEL BAZO.....	106
3.3.8.1.2.1. LESIONES DIFUSAS DEL PARÉNQUIMA ESPLÉNICO.....	107
3.3.8.1.2.2. LESIONES FOCALES DEL PARÉNQUIMA ESPLÉNICO.....	109
3.3.8.2. HÍGADO	110
3.3.8.2.1. ANATOMÍA NORMAL Y ASPECTO ECOGRÁFICO DEL HÍGADO	111
3.3.8.2.2. ALTERACIONES PATOLÓGICAS DEL HÍGADO	112
3.3.8.2.2.1. LESIONES DIFUSAS DEL PARÉNQUIMA HEPÁTICO	112
3.3.8.2.2.2. LESIONES FOCALES DEL PARÉNQUIMA HEPÁTICO.....	114
3.3.8.2.3. EVALUACIÓN DOPPLER DEL HÍGADO.....	116
3.3.8.2.3.1. EVALUACIÓN DOPPLER DE LA VENA CAVA CAUDAL Y LAS VENAS HEPÁTICAS.....	116
3.3.8.2.3.2. EVALUACIÓN DOPPLER DE LA VENA PORTA.....	118
3.3.8.2.3.3. EVALUACIÓN DOPPLER DE LAS ARTERIAS HEPÁTICAS.....	121
3.3.8.3. RIÑONES.....	122
3.3.8.3.1. ANATOMÍA NORMAL Y ASPECTO ECOGRÁFICO DE LOS RIÑONES	122
3.3.8.3.2. ALTERACIONES PATOLÓGICAS DEL RIÑÓN	124
3.3.8.3.2.1. LESIONES DIFUSAS DEL PARÉNQUIMA RENAL.....	124
3.3.8.3.2.2. LESIONES FOCALES DEL PARÉNQUIMA RENAL.....	126
3.3.8.3.3. EVALUACIÓN DOPPLER DEL RIÑÓN.....	127

4. MATERIAL Y MÉTODOS	133
4.1. RECEPCIÓN Y SELECCIÓN DE LOS ANIMALES ENFERMOS	133
4.2. EXAMEN FÍSICO DE LOS ANIMALES ENFERMOS	134
4.3. ANÁLISIS LABORATORIALES.....	135
4.3.1. TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE.....	135
4.3.2. HEMATOLOGÍA.....	135
4.3.2.1. PROCESADO DE LA SANGRE PARA LA OBSERVACIÓN DE FORMAS PARASITARIAS MEDIANTE MICROSCOPIA ÓPTICA	135
4.3.2.2. ANÁLISIS HEMATOLÓGICO.....	136
4.3.2.2.1. CÁLCULO DEL VALOR ABSOLUTO DE RETICULOCITOS CORREGIDO.....	138
4.3.3. ANÁLISIS BIOQUÍMICO	139
4.4. MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL	142
4.5. ECOGRAFÍA ABDOMINAL.....	143
4.5.1. ECÓGRAFO.....	143
4.5.2. TÉCNICA DE EXPLORACIÓN	143
4.5.2.1. BAZO	144
4.5.2.2. HÍGADO.....	144
4.5.2.3. RIÑONES	144
4.6. TRATAMIENTO DE LOS ANIMALES ENFERMOS	145
4.7. REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES ENFERMOS.....	145
4.8. GRUPO CONTROL	146
4.9. MÉTODO ESTADÍSTICO	146
5. RESULTADOS	151
5.1. RESULTADOS GLOBALES.....	152
5.1.1. VARIABLES CON VALOR CLÍNICO.....	154
5.1.2. VARIABLES HEMATOLÓGICAS.....	155
5.1.3. VARIABLES BIOQUÍMICAS	158
5.1.4. VARIABLES ECOGRÁFICAS.....	159
5.1.4.1. RESULTADOS ECOGRÁFICOS DEL GRUPO CONTROL.....	159
5.1.4.2. RESULTADOS ECOGRÁFICOS DE LOS PACIENTES CON BABESIOSIS	160
5.2. RESULTADOS OBTENIDOS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN	162
5.2.1. VARIABLES CON VALOR CLÍNICO	162
5.2.2. VARIABLES HEMATOLÓGICAS	166
5.2.2.1. HEMATOCRITO, RECUENTO TOTAL DE GLÓBULOS ROJOS Y HEMOGLOBINA	170

5.2.2.2. VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO, HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA, CONCENTRACIÓN CORPUSCULAR MEDIA DE HEMOGLOBINA, ANCHO DE DISTRIBUCIÓN ERITROCITARIA, PORCENTAJE DE RETICULOCITOS, RECUENTO ABSOLUTO DE RETICULOCITOS Y VALOR ABSOLUTO DE RETICULOCITOS CORREGIDO	171
5.2.2.3. RECUENTO TOTAL DE GLÓBULOS BLANCOS.....	173
5.2.2.4. RECUENTOS ABSOLUTOS DE LINFOCITOS, MONOCITOS, NEUTRÓFILOS, EOSINÓFILOS Y BASÓFILOS	173
5.2.2.5. RECUENTO ABSOLUTO DE PLAQUETAS, VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO Y ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO	175
5.2.3. VARIABLES BIOQUÍMICAS	176
5.2.3.1. CONCENTRACIONES DE FOSFATASA ALCALINA, ALANINA AMINOTRANSFERASA Y BILIRRUBINA TOTAL.....	178
5.2.3.2. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO SANGUÍNEO Y CREATININA	179
5.2.3.3. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y PROTEÍNAS TOTALES	180
5.2.4. VARIABLES ECOGRÁFICAS.....	181
5.3. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES.....	185
5.3.1. VARIABLES CON VALOR CLÍNICO	186
5.3.2. VARIABLES HEMATOLÓGICAS.....	188
5.3.2.1. HEMATOCRITO, RECUENTO TOTAL DE GLÓBULOS ROJOS Y HEMOGLOBINA.....	192
5.3.2.2. VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO, HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA, CONCENTRACIÓN CORPUSCULAR MEDIA DE HEMOGLOBINA, ANCHO DE DISTRIBUCIÓN ERITROCITARIA, PORCENTAJE DE RETICULOCITOS, RECUENTO ABSOLUTO DE RETICULOCITOS Y VALOR ABSOLUTO DE RETICULOCITOS CORREGIDO	193
5.3.2.3. RECUENTO TOTAL DE GLÓBULOS BLANCOS.....	195
5.3.2.4. RECUENTOS ABSOLUTOS DE LINFOCITOS, MONOCITOS, NEUTRÓFILOS, EOSINÓFILOS Y BASÓFILOS	195
5.3.2.5. RECUENTO ABSOLUTO DE PLAQUETAS, VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO Y ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO	197
5.3.3. VARIABLES BIOQUÍMICAS	198
5.3.3.1. CONCENTRACIONES DE FOSFATASA ALCALINA, ALANINA AMINOTRANSFERASA Y BILIRRUBINA TOTAL.....	200
5.3.3.2. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO SANGUÍNEO Y CREATININA	201
5.3.3.3. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y PROTEÍNAS TOTALES	202
5.3.4. VARIABLES ECOGRÁFICAS.....	203
5.4. RESULTADOS OBTENIDOS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA.....	207
5.4.1. VARIABLES CON VALOR CLÍNICO.....	207
5.4.2. VARIABLES HEMATOLÓGICAS.....	209
5.4.3. VARIABLES BIOQUÍMICAS	212
5.4.4. VARIABLES ECOGRÁFICAS.....	214

6. DISCUSIÓN	219
6.1. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS GLOBALES OBTENIDOS.....	219
6.1.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES EN FUNCIÓN DE SU RAZA, SEXO Y AMBIENTE.....	219
6.1.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS ESTUDIADAS.....	221
6.1.3. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES HEMATOLÓGICAS ESTUDIADAS.....	223
6.1.3.1. SERIE ROJA	223
6.1.3.2. SERIE BLANCA.....	224
6.1.3.3. PLAQUETAS.....	225
6.1.4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES BIOQUÍMICAS ESTUDIADAS	227
6.1.4.1. CONCENTRACIONES DE FOSFATASA ALCALINA, ALANINA AMINOTRANSFERASA Y BILIRRUBINA TOTAL	227
6.1.4.2. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO SANGUÍNEO Y CREATININA	227
6.1.4.3. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y PROTEÍNAS TOTALES	228
6.1.5. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES ECOGRÁFICAS ESTUDIADAS	229
6.1.5.1. LESIONES ESPLÉNICAS	230
6.1.5.2. LESIONES HEPÁTICAS	231
6.1.5.3. LESIONES RENALES	232
6.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN.....	234
6.2.1. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS ESTUDIADAS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN.....	234
6.2.2. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES HEMATOLÓGICAS ESTUDIADAS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN.....	236
6.2.2.1. SERIE ROJA	236
6.2.2.2. SERIE BLANCA	238
6.2.2.3. PLAQUETAS	239
6.2.3. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES BIOQUÍMICAS ESTUDIADAS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN.....	240
6.2.3.1. CONCENTRACIONES DE FOSFATASA ALCALINA, ALANINA AMINOTRANSFERASA Y BILIRRUBINA TOTAL	240
6.2.3.2. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO SANGUÍNEO Y CREATININA	241
6.2.3.3. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y PROTEÍNAS TOTALES.....	243
6.2.4. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES ECOGRÁFICAS ESTUDIADAS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN.....	244
6.2.4.1. LESIONES ESPLÉNICAS.....	244
6.2.4.2. LESIONES HEPÁTICAS.....	245

6.2.4.3. LESIONES RENALES	246
6.3. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES	249
6.3.1. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS OBTENIDAS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES.....	249
6.3.2. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES HEMATOLÓGICAS OBTENIDAS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES.....	250
6.3.2.1. SERIE ROJA	250
6.3.2.2. SERIE BLANCA.....	252
6.3.2.3. PLAQUETAS.....	252
6.3.3. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES BIOQUÍMICAS OBTENIDAS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES.....	253
6.3.3.1. CONCENTRACIONES DE FOSFATASA ALCALINA, ALANINA AMINOTRANSFERASA Y BILIRRUBINA TOTAL.....	253
6.3.3.2. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO SANGUÍNEO Y CREATININA	254
6.3.3.3. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y PROTEÍNAS TOTALES	255
6.3.4. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES ECOGRÁFICAS OBTENIDAS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES.....	256
6.3.4.1. LESIONES ESPLÉNICAS	256
6.3.4.2. LESIONES HEPÁTICAS	257
6.3.4.3. LESIONES RENALES	257
6.4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE LOS ANIMALES	259
6.4.1. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS OBTENIDAS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE LOS ANIMALES	259
6.4.2. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES HEMATOLÓGICAS OBTENIDAS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE LOS ANIMALES	261
6.4.3. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES BIOQUÍMICAS OBTENIDAS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE LOS ANIMALES	262
6.4.4. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES ECOGRÁFICAS OBTENIDAS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE LOS ANIMALES	264
7. CONCLUSIONES	267
7.1. CONCLUSIONES.....	267
7.2. CONCLUSIONS	269
8. BIBLIOGRAFÍA.....	273

9. RESÚMENES	333
9.1. RESUMEN	333
9.2. SUMMARY.....	343

II. RELACIÓN DE TABLAS

Tabla 1: Especies de garrapatas que transmiten la babesiosis en España (Camacho <i>et al.</i> , 2004b).....	20
Tabla 2: Compuestos babesicidas que se utilizan en el tratamiento de la babesiosis canina (Taboada y Lobetti, 2006)	57
Tabla 3: Valores medios de la presión arterial (mmHg) en perros sanos, obtenidos mediante distintas técnicas en diferentes estudios	77
Tabla 4: Valores de corte (en mmHg) para el diagnóstico de hipertensión en perros (Stepien, 2000).....	78
Tabla 5: Clasificación de la presión arterial (mmHg) en perros y gatos en función del riesgo de lesión en los órganos diana (Brown <i>et al.</i> , 2007)	79
Tabla 6: Límites para el diagnóstico de hipotensión sistólica y diastólica (en mmHg) en perros conscientes y bajo anestesia inhalatoria (Erhardt <i>et al.</i> , 2003).....	80
Tabla 7: Terminología utilizada para describir la imagen ecográfica (Barr, 1999)	91
Tabla 8: Orden creciente de ecogenicidad de los tejidos y sustancias corporales (Nyland <i>et al.</i> , 2002a)	92
Tabla 9: Rangos de referencia de las diferentes variables hematológicas según el método utilizado en nuestro laboratorio (LaserCyte®, IDEXX Laboratories).....	138
Tabla 10: Promedio de tiempo necesario para la maduración de los reticulocitos en el perro (Feldman, 2007)	139
Tabla 11: Rangos de referencia de las diferentes variables plasmáticas según el método utilizado en nuestro laboratorio (VetTest®, IDEXX Laboratories)	141
Tabla 12: Descripción de las variables estudiadas en cada paciente	154
Tabla 13: Valores medios de las variables con valor clínico de los 104 perros afectados de babesiosis	154
Tabla 14: Valores medios de los parámetros hematológicos de los 104 perros afectados de babesiosis	156
Tabla 15: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los 104 perros afectados de babesiosis	158
Tabla 16: Valores medios de la hemodinámica renal de los perros pertenecientes al grupo control	159
Tabla 17: Número de animales afectados de babesiosis que presentaban lesiones en la exploración ecográfica	160
Tabla 18: Prevalencia de las distintas lesiones ecográficas en los órganos estudiados.....	160
Tabla 19: Valores medios de la hemodinámica renal de los pacientes con babesiosis.....	161
Tabla 20: Valores medios de las variables con valor clínico de los pacientes con babesiosis complicada.	162
Tabla 21: Valores medios de las variables con valor clínico de los pacientes con babesiosis no complicada grave.	163

Tabla 22: Valores medios de las variables con valor clínico de los pacientes con babesiosis no complicada leve.	164
Tabla 23: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis complicada.....	167
Tabla 24: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave.	168
Tabla 25: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis no complicada leve.	169
Tabla 26: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis complicada.....	176
Tabla 27: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave.....	177
Tabla 28: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis no complicada leve	177
Tabla 29: Número de animales con babesiosis complicada que presentaban lesiones en la exploración ecográfica.....	181
Tabla 30: Número de animales con babesiosis no complicada grave que presentaban lesiones en la exploración ecográfica	182
Tabla 31: Número de animales con babesiosis no complicada leve que presentaban lesiones en la exploración ecográfica	182
Tabla 32: Prevalencia de las distintas lesiones en los pacientes con babesiosis complicada, no complicada grave y no complicada leve	183
Tabla 33: Valores medios de la hemodinámica renal de los pacientes con babesiosis complicada.....	184
Tabla 34: Valores medios de la hemodinámica renal de los pacientes con babesiosis no complicada grave.....	184
Tabla 35: Valores medios de la hemodinámica renal de los pacientes con babesiosis no complicada leve.	185
Tabla 36: Valores medios de las variables con valor clínico en la revisión de los pacientes con babesiosis complicada	186
Tabla 37: Valores medios de las variables con valor clínico en la revisión de los pacientes con babesiosis no complicada grave	186
Tabla 38: Valores medios de las variables con valor clínico en la revisión de los pacientes con babesiosis no complicada leve.....	187
Tabla 39: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis complicada en el momento de la revisión.....	189
Tabla 40: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave en el momento de la revisión.....	190
Tabla 41: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis no complicada leve en el momento de la revisión.	191
Tabla 42: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis complicada en el momento de la revisión.....	198

Tabla 43: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave en el momento de la revisión.....	199
Tabla 44: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis no complicada leve en el momento de la revisión	199
Tabla 45: Número de animales con babesiosis complicada que presentaban lesiones en la exploración ecográfica en el momento de la revisión	203
Tabla 46: Número de animales con babesiosis no complicada grave que presentaban lesiones en la exploración ecográfica en el momento de la revisión.....	204
Tabla 47: Número de animales con babesiosis no complicada leve que presentaban lesiones en la exploración ecográfica en el momento de la revisión.....	204
Tabla 48: Prevalencia de las distintas lesiones en los pacientes con babesiosis complicada, no complicada grave y no complicada leve en el momento de la revisión.....	205
Tabla 49: Valores medios de la hemodinámica renal en los pacientes con babesiosis complicada en el momento de la revisión	205
Tabla 50: Valores medios de la hemodinámica renal en los pacientes con babesiosis no complicada grave en el momento de la revisión. (*) diferencias significativas respecto al grupo control	206
Tabla 51: Valores medios de la hemodinámica renal en los pacientes con babesiosis no complicada leve en el momento de la revisión	206
Tabla 52: Valores medios de las variables con valor clínico de los pacientes con babesiosis complicada que no sobrevivieron	207
Tabla 53: Valores medios de las variables con valor clínico de los pacientes con babesiosis no complicada grave que no sobrevivieron	208
Tabla 54: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis complicada que no sobrevivieron	210
Tabla 55: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave que no sobrevivieron	211
Tabla 56: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis complicada que no sobrevivieron	212
Tabla 57: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave que no sobrevivieron	213
Tabla 58: Número y porcentaje de animales con babesiosis complicada que no sobrevivieron y que presentaban lesiones en la exploración ecográfica.....	214
Tabla 59: Valores medios del índice de resistencia renal de los pacientes con babesiosis complicada que no sobrevivieron.	215

III. RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biológico de <i>Babesia spp.</i> (Hunfeld <i>et al.</i> , 2008).....	16
Figura 2: Ciclo biológico de <i>Babesia canis</i>	18
Figura 3: Cachorro letárgico y anoréxico debido a la infección por <i>Babesia canis</i>	25
Figura 4: Palidez extrema en mucosas.....	25
Figura 5: Bilirrubinuria y hemoglobinuria.....	26
Figura 6: Hemólisis y anemia característica de la babesiosis.....	26
Figura 7: Conjuntiva icterica	27
Figura 8: Ictericia cutánea.....	27
Figura 9: Ictericia y úlceras en la mucosa oral características del fallo hepático y renal.....	27
Figura 10: Microhematocrito con evidencia de anemia e ictericia.....	27
Figura 11: Extensión de sangre periférica donde se observa la forma piriforme característica de los trofozoítos de <i>Babesia canis</i> dentro de los eritrocitos.....	54
Figura 12: Extensión de sangre periférica donde se observan trofozoítos de <i>Babesia canis</i> extraeritrocitarios	54
Figura 13: Extensión de sangre periférica donde se observa el fenómeno de eritrofagocitosis	54
Figura 14: Extensión de sangre periférica donde se observan múltiples eritrocitos parasitados por <i>Babesia canis</i>	54
Figura 15: Extensión de sangre periférica donde se puede observar múltiples trofozoítos de <i>Babesia canis</i> en un mismo hematíe	54
Figura 16: Extensión de sangre periférica donde se observan trofozoítos de <i>Babesia annae</i>	54
Figura 17: Dispositivo oscilométrico automatizado.....	71
Figura 18: Unidad Doppler para la medición de la presión arterial.....	74
Figura 19: Medición de la presión arterial en un perro mediante el método Doppler	74
Figura 20: Los diferentes modos ecográficos representan los ecos que regresan como picos o puntos (Nyland <i>et al.</i> , 2002a).....	86
Figura 21: Efecto Doppler producido por un receptor en movimiento (Wells, 1999)	97
Figura 22: Representación espectral del Doppler (Nyland <i>et al.</i> , 2002a)	102
Figura 23: Perfiles de velocidad del flujo sanguíneo (Nyland <i>et al.</i> , 2002a)	102
Figura 24: Evidencia de bordes esplénicos redondeados indicativo de esplenomegalia.....	109
Figura 25: Presencia de signo de “depresión” en el hilio esplénico (aumento de grosor patológico del bazo en la zona de entrada de los vasos esplénicos) indicativo de esplenomegalia.....	109
Figura 26: Imagen ecográfica compatible con un hígado normal.....	113
Figura 27: Imagen ecográfica que muestra un hígado hipoecogénico, con realce de los ecos periportales	113
Figura 28: Imagen ecográfica que muestra la ecogenicidad normal del riñón, siendo similar a la del parénquima hepático.....	125

Figura 29: Imagen ecográfica que muestra el aumento de la ecogenicidad cortical de riñón, siendo ésta muy superior a la del hígado	125
Figura 30: Sistema vascular renal (Radermacher, 2006).....	128
Figura 31: Visualización de los vasos sanguíneos renales con el Doppler Color y cálculo del IR y del IP de una arteria arcuata renal mediante el Doppler pulsátil.....	129
Figura 32: Esquema óptico del citómetro de flujo láser (IDEXX Laboratories)	136
Figura 33: Distintas capas de las placas reactivas del VetTest®	139

IV. RELACIÓN DE GRÁFICAS

Gráfica 1: Distribución por razas de los perros diagnosticados de babesiosis en este estudio.....	152
Gráfica 2: Distribución de los pacientes por grupos de edad	153
Gráfica 3: Distribución de los pacientes por sexo.....	153
Gráfica 4: Distribución de los pacientes por su ambiente.....	153
Gráfica 5: Porcentaje de perros con babesiosis que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal	155
Gráfica 6: Porcentaje de perros con babesiosis complicada que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal.....	163
Gráfica 7: Porcentaje de perros con babesiosis no complicada grave que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal.....	163
Gráfica 8: Porcentaje de perros con babesiosis no complicada leve que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal.....	164
Gráfica 9: Distribución de la edad en función del grado de complicación.....	165
Gráfica 10: Distribución del peso en función del grado de complicación.....	165
Gráfica 11: Distribución de la temperatura corporal en función del grado de complicación	165
Gráfica 12: Distribución de la presión arterial en función del grado de complicación.....	165
Gráfica 13: Distribución del valor hematocrito en función del grado de complicación	170
Gráfica 14: Distribución del recuento total de glóbulos rojos en función del grado de complicación	170
Gráfica 15: Distribución de la concentración de hemoglobina en función del grado de complicación	170
Gráfica 16: Distribución del volumen corpuscular medio en función del grado de complicación.....	171
Gráfica 17: Distribución de la hemoglobina corpuscular media en función del grado de complicación	171
Gráfica 18: Distribución de la concentración corpuscular media de hemoglobina en función del grado de complicación	171
Gráfica 19: Distribución del ancho de distribución eritrocitaria en función del grado de complicación	171
Gráfica 20: Distribución del porcentaje de reticulocitos en función del grado de complicación.....	172
Gráfica 21: Distribución del recuento absoluto de reticulocitos en función del grado de complicación	172
Gráfica 22: Distribución del valor absoluto de reticulocitos corregido en función del grado de complicación	172
Gráfica 23: Distribución del recuento total de glóbulos blancos en función del grado de complicación	173
Gráfica 24: Distribución del recuento absoluto de linfocitos en función del grado de complicación	174

Gráfica 25: Distribución del recuento absoluto de monocitos en función del grado de complicación.....	174
Gráfica 26: Distribución del recuento absoluto de neutrófilos en función del grado de complicación.....	174
Gráfica 27: Distribución del recuento absoluto de eosinófilos en función del grado de complicación.....	174
Gráfica 28: Distribución del recuento absoluto de basófilos en función del grado de complicación.....	174
Gráfica 29: Distribución del recuento absoluto de plaquetas en función del grado de complicación.....	175
Gráfica 30: Distribución del volumen plaquetario medio en función del grado de complicación	175
Gráfica 31: Distribución del ancho de distribución plaquetario medio en función del grado de complicación.....	175
Gráfica 32: Distribución de la concentración de ALP en función del grado de complicación.....	178
Gráfica 33: Distribución de la concentración de ALT en función del grado de complicación.....	178
Gráfica 34: Distribución de la concentración de bilirrubina total en función del grado de complicación.....	178
Gráfica 35: Distribución de la concentración del BUN en función del grado de complicación.....	179
Gráfica 36: Distribución de la concentración de creatinina en función del grado de complicación.....	179
Gráfica 37: Distribución de la concentración de glucosa en función del grado de complicación.....	180
Gráfica 38: Distribución de la concentración de proteínas totales en función del grado de complicación.....	180
Gráfica 39: Porcentaje de perros con babesiosis complicada que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal en el momento de la revisión.....	186
Gráfica 40: Porcentaje de perros con babesiosis no complicada grave que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal en el momento de la revisión	187
Gráfica 41: Porcentaje de perros con babesiosis no complicada leve que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal en el momento de la revisión	187
Gráfica 42: Distribución de la temperatura corporal en función del grado de complicación en el momento de la revisión	188
Gráfica 43: Distribución de la presión arterial en función del grado de complicación en el momento de la revisión	188
Gráfica 44: Distribución del valor hematocrito en función del grado de complicación en el momento de la revisión	192
Gráfica 45: Distribución del recuento total de glóbulos rojos en función del grado de complicación en el momento de la revisión.....	192
Gráfica 46: Distribución de la concentración de hemoglobina en función del grado de complicación en el momento de la revisión.....	192
Gráfica 47: Distribución del volumen corpuscular medio en función del grado de complicación en el momento de la revisión.....	193

Gráfica 48: Distribución de la hemoglobina corpuscular media en función del grado de complicación en el momento de la revisión	193
Gráfica 49: Distribución de la concentración corpuscular media de hemoglobina en función del grado de complicación en el momento de la revisión	194
Gráfica 50: Distribución del ancho de distribución eritrocitaria en función del grado de complicación en el momento de la revisión	194
Gráfica 51: Distribución del porcentaje de reticulocitos en función del grado de complicación en el momento de la revisión	194
Gráfica 52: Distribución del recuento absoluto de reticulocitos en función del grado de complicación en el momento de la revisión	194
Gráfica 53: Distribución del valor absoluto de reticulocitos corregido en función del grado de complicación en el momento de la revisión	194
Gráfica 54: Distribución del recuento total de glóbulos blancos en función del grado de complicación en el momento de la revisión	195
Gráfica 55: Distribución del recuento absoluto de linfocitos en función del grado de complicación en el momento de la revisión	196
Gráfica 56: Distribución del recuento absoluto de monocitos en función del grado de complicación en el momento de la revisión	196
Gráfica 57: Distribución del recuento absoluto de neutrófilos en función del grado de complicación en el momento de la revisión	196
Gráfica 58: Distribución del recuento absoluto de eosinófilos en función del grado de complicación en el momento de la revisión	196
Gráfica 59: Distribución del recuento absoluto de basófilos en función del grado de complicación en el momento de la revisión	196
Gráfica 60: Distribución del recuento absoluto de plaquetas en función del grado de complicación en el momento de la revisión	197
Gráfica 61: Distribución del volumen plaquetario medio en función del grado de complicación en el momento de la revisión	197
Gráfica 62: Distribución del ancho de distribución plaquetario medio en función del grado de complicación en el momento de la revisión	197
Gráfica 63: Distribución de la concentración de ALP en función del grado de complicación en el momento de la revisión	200
Gráfica 64: Distribución de la concentración de ALT en función del grado de complicación en el momento de la revisión	200
Gráfica 65: Distribución de la concentración de bilirrubina total en función del grado de complicación en el momento de la revisión	200
Gráfica 66: Distribución de la concentración del BUN en función del grado de complicación en el momento de la revisión	201
Gráfica 67: Distribución de la concentración de creatinina en función del grado de complicación en el momento de la revisión	201
Gráfica 68: Distribución de la concentración de glucosa en función del grado de complicación en el momento de la revisión	202

Gráfica 69: Distribución de la concentración de proteínas totales en función del grado de complicación en el momento de la revisión	202
Gráfica 70: Porcentaje de perros con babesiosis complicada y que no sobrevivieron que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal	208
Gráfica 71: Porcentaje de perros con babesiosis no complicada grave y que no sobrevivieron que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal	208

INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

1. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

La babesiosis es una enfermedad de importancia mundial causada por diversos microorganismos hematozoarios del género *Babesia* (Schetters *et al.*, 1997a; Taboada, 1997; Lobetti, 1998; Zahler *et al.*, 1998; Birkenheuer *et al.*, 1999; Carret *et al.*, 1999; Zahler *et al.*, 2000a; Zahler *et al.*, 2000b; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2007; Lappin 2009). Estos parásitos fueron descubiertos en Rumania por Víctor Babes quien, en 1887, estableció la etiología de esta enfermedad en un ternero que presentaba un cuadro de fiebre, anemia hemolítica y hemoglobinuria (Babes, 1888). En la actualidad están identificadas más de 100 especies de *Babesia* (Boozer y Macintire, 2003), transmitidas por garrapatas y capaces de inducir la enfermedad en un amplio rango de huéspedes vertebrados, incluyendo tanto a animales domésticos como salvajes e incluso al hombre (Kuttler, 1988a). En este sentido, la babesiosis es una grave zoonosis cuya difusión ha aumentado mucho en los últimos años (Homer *et al.*, 2000; Kjemtrup y Conrad, 2000; Herwaldt *et al.*, 2003; Taboada y Lobetti, 2006; Hunfeld *et al.*, 2008; Vannier *et al.*, 2008). Aunque el primer caso de babesiosis en humanos fue descrito en Yugoslavia en el año 1956 (Skrabalo y Deanovic, 1957), es en Estados Unidos donde ha adquirido mayor importancia, llegando a describirse cientos de casos, la mayoría de los cuales son causados por *B. microti*, que es un parásito de roedores silvestres (Gorenflot *et al.*, 1998; Homer *et al.*, 2000). También se han descrito infecciones en China, Taiwán, Egipto, Sudáfrica, México (Homer *et al.*, 2000) y más recientemente en Corea (Kim *et al.*, 2007). En Europa el número de casos ha sido mucho menor, desde 1957 hasta la actualidad han sido identificados alrededor de 35 casos, muchos de ellos en Francia y en menor número en Irlanda, Suecia, España, Portugal, Italia, Austria, Eslovenia y Alemania (Uhnnoo *et al.*, 1992; Gorenflot *et al.*, 1998; Centeno-Lima *et al.*, 2003; Herwaldt *et al.*, 2003; Duh *et al.*, 2005; Meliani *et al.*, 2006; Häselbarth *et al.*, 2007). La mayoría de las

infecciones en Europa son atribuidas al parásito bovino *B. divergens*, no obstante también se han descrito infecciones por *B. microti* (Gray, 2006; Hildebrandt *et al.*, 2007).

Así pues, el ser humano no tiene especies propias de *Babesia* pero interviene como un hospedador accidental, sobre todo en el ciclo epidemiológico de las especies de roedores (*B. microti*) y de bóvidos (*B. divergens*). La enfermedad causada por ambas especies de *Babesia* es clínicamente distinta en función del estado inmunológico del paciente. Cursa con cuadros asintomáticos o como un síndrome mononucleósico autolimitado en pacientes inmunocompetentes, según los estudios epidemiológicos realizados en zonas endémicas, pero puede llegar a causar una enfermedad extremadamente grave en pacientes esplenectomizados o inmunodeficientes (Gorenflot *et al.*, 1998). También parece existir una correlación entre la gravedad de la infección y la edad de los pacientes, así como con la presencia o no de infecciones concomitantes (Homer *et al.*, 2000; Kjemtrup y Conrad, 2000). Las infecciones causadas por *B. divergens* suelen ser más graves que aquellas provocadas por *B. microti* (Homer *et al.*, 2000).

El perro representa el animal de compañía de mayor importancia como huésped de las distintas especies de *Babesia* (Breitschwerdt, 1984; Abdullahi y Sannusi, 1986). Tradicionalmente se han descrito dos especies de *Babesia* capaces de parasitar al perro: una “grande”, *Babesia canis* (Piana y Galli-Valerio, 1895), y otra “pequeña”, *Babesia gibsoni* (Patton, 1910), fácilmente distinguibles por microscopía óptica. La babesiosis canina produce un cuadro clínico caracterizado principalmente por un síndrome febril y hemolítico, lo que origina cuadros importantes de anemia y hemoglobinuria (Navarrete y Nieto, 1999). Aunque la anemia hemolítica es lo más característico de esta infección, pueden ocurrir numerosas variaciones y complicaciones orgánicas en función de la especie de *Babesia* implicada, la inmunidad del huésped, la edad o la presencia de enfermedades concurrentes (Maegraith *et al.*, 1957), lo que explica que pueda presentarse como una enfermedad relativamente leve o causar un cuadro tan grave que suponga la muerte del animal (Breitschwerdt, 1984; Taboada y Merchant, 1991).

Pese al profundo conocimiento de los agentes implicados y la relativa frecuencia con la que se presenta la babesiosis de forma natural, todavía existen muchas carencias en la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos de esta compleja y fascinante enfermedad (Jacobson y Clark, 1994). A día de hoy siguen siendo numerosos los estudios que tratan de identificar los mecanismos que generan tanta diversidad de presentaciones clínicas provocadas por un mismo microorganismo. Estos trabajos toman importancia no sólo por el avance que suponen en el conocimiento y manejo de la enfermedad en las especies de interés veterinario, sino por la posibilidad de extrapolar los hallazgos relevantes a la medicina humana, ya que la babesiosis canina, además de ser una grave zoonosis, se ha establecido como un modelo potencial para el estudio de la malaria en el hombre (Clark y Jacobson, 1998; Reyers *et al.*, 1998; Lobetti, 2007a; Krause *et al.*, 2007).

La distribución de la babesiosis canina es cosmopolita, ya que, aunque es especialmente frecuente en zonas tropicales o subtropicales, ha sido diagnosticada en países de muy diferente climatología del centro y sur de Europa, África, Asia, Oceanía, América del Sur, Estados Unidos o México (Navarrete y Nieto, 1999; Lappin, 2007; Lappin, 2009). Un aspecto importante de la babesiosis es el hecho de ser una enfermedad emergente con la aparición de nuevos y numerosos casos en distintas zonas de Europa, Estados Unidos, África, Australia o Japón. La transmisión de la enfermedad se ha visto facilitada por el transporte internacional de perros y por los cambios climáticos que favorecen la presencia de vectores en regiones previamente libres de ellos (Boozer y Macintire, 2003; Heyman *et al.*, 2007). Es tal la importancia de estos acontecimientos que en países como el Reino Unido, que está libre de esta enfermedad, se obliga a que, bajo la supervisión de un veterinario, todos los propietarios de las mascotas apliquen un ectoparasitocida de eficacia demostrada antes de ingresar en el país, y de hecho, los actuales pasaportes comunitarios para mascotas incluyen un epígrafe especial para certificar la aplicación de estos productos y controlar de esta forma la extensión de la enfermedad con un control riguroso del vector.

En nuestro ámbito de trabajo, el noroeste de la Península Ibérica, se trata de una enfermedad que podemos considerar endémica y con ciertas connotaciones añadidas, pues diversos trabajos publicados con pacientes que contrajeron la enfermedad de forma natural en nuestra Comunidad hacen referencia a la posibilidad de que la babesiosis canina en Galicia este provocada, además de por las especies antes mencionadas, por una cepa característica denominada *Babesia annae* (Goethert y Telford, 2003), anteriormente conocida como *Theileria annae* (Zahler *et al.*, 2000b; Camacho *et al.*, 2001).

Como ya hemos comentado anteriormente, son numerosos los estudios realizados sobre la babesiosis canina, especialmente en Sudáfrica, donde esta enfermedad alcanza cifras preocupantes. En ellos se ha investigado sobre diversos aspectos de la enfermedad que han contribuido enormemente al avance en el conocimiento que a día de hoy tenemos sobre este proceso. Sin embargo, la mayoría de estos estudios han sido llevados a cabo en pacientes afectados por *Babesia canis rossi*, una subespecie más virulenta que la que acostumbra a parasitar a nuestros pacientes, y es posible que sus resultados no sean del todo extrapolables a nuestra realidad.

De los múltiples estudios realizados quizás los de mayor interés clínico son aquellos que permiten establecer factores pronóstico o detectar la aparición de posibles complicaciones orgánicas antes de que sean potencialmente mortales. En este sentido se han realizado estudios sobre la implicación renal y cardiaca en la babesiosis canina, sobre la prevalencia e importancia de cambios en los valores del hematocrito, plaquetas, factores de coagulación, creatinina, BUN, proteínas séricas, glucosa, ALT, ALP, AST, bilirrubina, lactato sanguíneo, nitratos y nitritos, troponinas, etc.; así como la

aplicación de estudios moleculares, de distintas técnicas de diagnóstico, tratamientos, vacunas y un largo etcétera de trabajos realizados a lo largo de todo el mundo.

Con este trabajo pretendemos obtener datos eminentemente clínicos de la babesiosis canina, para disponer de la máxima información a la hora de establecer posibles índices diagnósticos y pronósticos de esta enfermedad endémica en Galicia. A su vez, tratamos de averiguar la utilidad de la ecografía para detectar las alteraciones producidas por la babesiosis en los principales órganos abdominales, como son el bazo, el hígado y los riñones y comprobar si estas lesiones guardan relación con los distintos parámetros hemáticos y séricos, así como con las distintas complicaciones que presentan estos pacientes infectados por *Babesia canis*.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Esta Tesis Doctoral ha sido planteada con los siguientes objetivos:

1. Estudiar en perros de la Comunidad Autónoma de Galicia que llegan infectados por *Babesia canis* al Hospital Veterinario Universitario Rof Codina, la existencia de una posible predisposición racial, así como la importancia del sexo, la aptitud o el ambiente de estos animales a la hora de contraer la enfermedad.
2. Determinar qué parámetros clínicos y laboratoriales comúnmente utilizados en la clínica veterinaria, aportan mayor información para el diagnóstico y valoración del estado clínico del paciente en la babesiosis canina.
3. Establecer la idoneidad de la clasificación propuesta para la babesiosis por Jacobson y Clark (1994) en Sudáfrica para valorar clínicamente a los animales infectados por *Babesia canis* en Galicia.
4. Conocer la evolución de la enfermedad en perros infectados por *Babesia canis* tratados con dipropionato de imidocarb y determinar su correspondencia con los distintos parámetros clínicos, laboratoriales y ecográficos, así como su relación con el grado de complicación de la enfermedad.
5. Estimar la utilidad de la ecografía para valorar las lesiones producidas por la babesiosis en los principales órganos abdominales, comprobando si éstas guardan relación con los distintos parámetros hemáticos y séricos, así como con las diferentes complicaciones de la enfermedad que presenten los pacientes infectados por *Babesia canis*.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. BABESIOSIS CANINA

3.1.1. MORFOLOGÍA DEL GÉNERO *Babesia*

Históricamente, la clasificación de los distintos agentes causantes de la babesiosis canina se ha realizado basándose en los caracteres morfológicos de los merozoítos intraeritrocitarios. Así, tradicionalmente, se han descrito dos especies de *Babesia* capaces de parasitar al perro: una “grande”, *Babesia canis* (Piana y Galli-Valerio, 1895), y otra “pequeña”, *Babesia gibsoni* (Patton, 1910); fácilmente distinguibles por microscopía óptica (Mehlhorn y Schein, 1987; Kuttler, 1988a; Caccio *et al.*, 2002). *Babesia canis* es un microorganismo relativamente grande ($2.4 \times 5.0 \mu\text{m}$), de forma piriforme, aunque puede observarse bajo distintas formas, y con frecuencia se encuentra en parejas formando un ángulo agudo dentro de los eritrocitos (no obstante, también es común observar glóbulos rojos con infección única). *Babesia gibsoni* es pequeña ($1.0 \times 3.2 \mu\text{m}$), pleomórfica y suele encontrarse aislada dentro de los eritrocitos (Taboada, 1997). Con microscopía electrónica se observa que este parásito posee en su extremo obtuso un complejo apical electrodenso que le permite penetrar en el hematíe (Urquhart *et al.*, 2001).

El establecimiento de su secuencia genética, usando la prueba de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ha permitido una mayor subdivisión de las denominadas “babesias pequeñas” y, en consecuencia, ha sido preciso revisar, tanto el número, como la clasificación taxonómica de las distintas especies que parasitan a los perros (Kjemtrup *et al.*, 2000; Caccio *et al.*, 2002; Criado-Fornelio *et al.*, 2003a). Actualmente conocemos tres tipos de “babesias pequeñas”, morfológicamente similares pero genotípicamente distintas: *Babesia gibsoni* “Asia”, endémica en Asia y que

presumiblemente se trate de la misma especie encontrada en el norte y este de África, Norte América (Zahler *et al.*, 2000a) y más recientemente en Alemania (Hartelt *et al.*, 2007); *Babesia annae* (Goethert y Telford, 2003) anteriormente citada como *Theileria annae* (Zahler *et al.*, 2000b; Camacho *et al.*, 2001), *Babesia gibsoni* (Suárez *et al.*, 2001) o como *Babesia microti*-like (Camacho *et al.*, 2001), que parece ser endémica en el noroeste de España (Gutián *et al.*, 2003; Camacho, 2005, 2006), aunque también se ha identificado en Croacia (Beck *et al.*, 2009) y *Babesia conradae*, descubierta en el sur de California (Kjemtrup *et al.*, 2006), a la que se habían referido en publicaciones anteriores como *Babesia gibsoni* o *Babesia gibsoni* “California”, pero que por sus características moleculares, antigénicas y morfológicas debe considerarse una especie distinta (Kjemtrup y Conrad, 2006). Además, apoyándose en estudios genéticos se ha descrito la presencia de otras dos “babesias pequeñas” en la sangre de perros que habitan en España, conocidas como *Theileria equi* (más recientemente denominada *Babesia equi*) y *Theileria annulata* (Criado-Fornelio *et al.*, 2003b; Birkenheuer *et al.*, 2004a; Criado-Fornelio *et al.*, 2007). *Babesia equi* también ha sido hallada en perros residentes en Francia (Fritz, 2008).

3.1.2. ETIOLOGÍA: *Babesia canis*

El género *Babesia* pertenece a la subclase Piroplasmae, orden Piroplasmida, superfamilia Babesioidea, familia Babesiidae (Navarrete *et al.*, 1999).

Teniendo en cuenta los estudios serológicos y de inmunidad cruzada realizados, su localización geográfica y las diferencias observadas en la patogenicidad y los vectores que la transmiten, se ha propuesto un sistema de nomenclatura trinomial para *Babesia canis*, fijándose tres subespecies genéticamente distintas: *B. canis canis*, *B. canis rossi* y *B. canis vogeli* (Uilenberg *et al.*, 1989; Hauschild y Schein, 1996; Schetters *et al.*, 1997a; Carret *et al.*, 1999; Caccio *et al.*, 2002; Birkenheuer *et al.*, 2004a). Todas ellas presentan una elevada respuesta inmune y altamente específica, existiendo una pequeña protección cruzada entre ellas (Boozer y Macintire, 2003). Los análisis genéticos de secuencias de ARNr han revelado que *B. canis canis* y *B. canis vogeli* son las más semejantes, con un 82% de analogía en la posición de sus nucleótidos (Zahler *et al.*, 1998).

Babesia canis canis es la causante de la mayoría de las babesiosis en Europa y Asia y es transmitida por garrapatas del género *Dermacentor* (Taboada, 1997; Boozer y Macintire, 2003). Su patogenicidad es intermedia, como resalta el hecho de que en un estudio realizado en áreas endémicas de Francia más del 85% de los 500 perros evaluados poseían anticuerpos frente a *Babesia*. Su mortalidad sólo alcanza un 1,5% y es debida principalmente a daños hepáticos y/o renales (Martinod *et al.*, 1986).

Babesia canis rossi tiene aproximadamente un 70% de secuencias homólogas respecto a las otras dos subespecies (Zahler *et al.*, 1998). Es la cepa que se encuentra en el este y sur de África y se transmite por *Haemaphysalis spp.* (Lobetti, 1998; Oyamada *et al.*, 2005). Está muy difundida y es sin duda alguna la más virulenta de las tres (Boozer y Macintire, 2003). Prueba de ello es que en Sudáfrica, en el Hospital Académico Veterinario de Onderstepoort (OVAH), donde un 12% de sus pacientes son diagnosticados de babesiosis, aproximadamente un tercio de los perros requieren ser hospitalizados y, a pesar del tratamiento, el número de muertes es elevado (Shakespeare, 1995).

Babesia canis vogeli es el nombre otorgado por los expertos para la cepa descrita en la región tropical y subtropical de la mayor parte de los continentes y que es transmitida por *Rhipicephalus sanguineus*. Es la menos patógena de las tres cepas y tal vez la única hallada en Estados Unidos (Taboada, 1997; Boozer y Macintire, 2003). Su presencia también ha sido descrita en Sudamérica (Passos *et al.*, 2005; Trapp *et al.*, 2006; Criado-Fornelio *et al.*, 2007; Costa-Junior *et al.*, 2008; Eiras *et al.*, 2008), Australia (Irwin y Hutchinson, 1991; Jefferies *et al.*, 2003; Brown *et al.*, 2006; Martin *et al.*, 2006a), África (Lobetti, 1998; Matjila *et al.*, 2004; Oyamada *et al.*, 2005; Sasaki *et al.*, 2007; M'ghirbi y Bouattour, 2008), Asia (Inokuma *et al.*, 2004) y distintas zonas de Europa como Eslovenia (Duh *et al.*, 2004), Croacia (Beck *et al.*, 2009), Turquía (Gülanber *et al.*, 2006), Reino Unido (Holm *et al.*, 2006) Portugal (Cardoso *et al.*, 2008), Italia (Solano-Gallego *et al.*, 2008) Francia (Criado-Fornelio *et al.*, 2008) y España (Caccio *et al.*, 2002; Criado-Fornelio *et al.*, 2003; Criado-Fornelio *et al.*, 2007). *B. canis vogeli* posee una patogenicidad baja que normalmente oscila de subclínica a leve y a menudo aparece en compañía de otras enfermedades o en perros esplenectomizados. Así, en Estados Unidos, los Greyhounds (Galgos) adultos y clínicamente sanos suelen ser seropositivos para *B. canis vogeli* (Taboada y Lobetti, 2006). No obstante, en cachorros puede provocar una anemia hemolítica grave que suponga, incluso, la muerte del animal (Solano-Gallego *et al.*, 2008).

Además, cabe señalar que en Carolina del Norte (EE.UU.) ha sido identificada otra *Babesia* “grande” en un Labrador retriever que estaba siendo sometido a quimioterapia debido a un linfosarcoma. Este protozoo presenta gran semejanza con *Babesia bigemina* (especie de *Babesia* que no parasita al perro), sin embargo, los tests de anticuerpos y PCR para todas las especies de *Babesia* conocidas resultaron negativas; por lo tanto, todavía sigue bajo la denominación genérica de *Babesia spp.* (Birkenheuer *et al.*, 2003a; Birkenheuer *et al.*, 2004a).

3.1.3. CICLO BIOLÓGICO DE *Babesia spp.*

El ciclo biológico de *Babesia spp.* necesita del obligado concurso de las garrapatas como vectores del parásito. Este ciclo contempla la alternancia de reproducción asexual y sexual a lo largo de

su desarrollo, y transcurre en las tres fases típicas de los *Apicomplexa* (figura 1). El ciclo completo tiene lugar en unos siete días (Navarrete *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007):

- Esquizogonia o merogonia. Reproducción asexual que se produce en las células rojas del hospedador vertebrado.
- Gametogonia. Reproducción sexual, con la formación y fusión de los gametos en las células intestinales de una garrapata, hospedador invertebrado.
- Esporogonia. Reproducción asexual en las glándulas salivales de la garrapata, originándose los esporozoítos, agentes infecciosos que son transmitidos desde la saliva de la garrapata a la sangre del hospedador vertebrado.

Las formas infectivas de *Babesia*, en condiciones naturales, son inoculadas en un huésped susceptible por la picadura de garrapatas infectadas (Taboada, 1997). Este hecho fue demostrado por primera vez por Smith y Kilborne (1893) en *Babesia bigemina*, agente responsable de la fiebre de Texas (Soulsby, 1982).

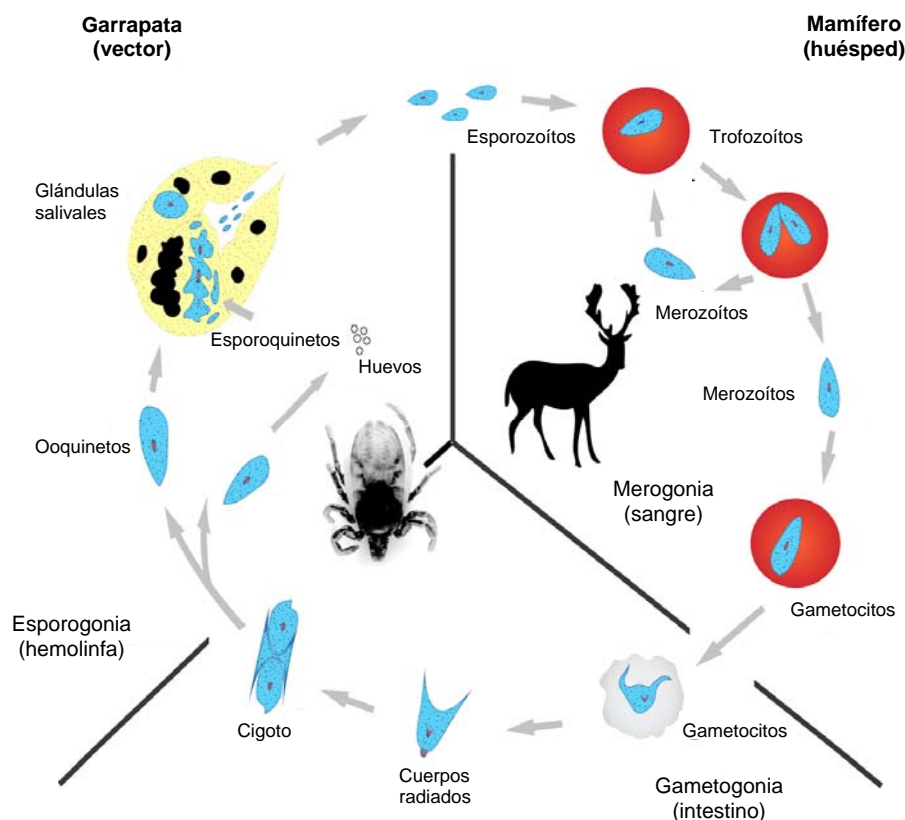


Figura 1: Ciclo biológico de *Babesia* spp. (Hunfeld *et al.*, 2008)

3.1.4. TRANSMISIÓN DE *Babesia spp.*

La transmisión de *Babesia* es siempre transovárica en las garrapatas hembras. Así, una vez capturado el parásito en el interior del glóbulo rojo del hospedador, al succionar sangre para nutrirse, la *Babesia* pasa al ovario de la garrapata, penetrando en los huevos en formación; de aquí pasa a la larva, ninfa y adulto de la siguiente generación. Cualquiera de estos estadios del ciclo evolutivo de la garrapata será el encargado de transmitir el protozoo a un nuevo hospedador vertebrado cuando se alimente sobre él (Navarrete *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007). Por lo tanto, aunque las garrapatas hembras adultas juegan el papel más importante en la transmisión de *Babesia*, todos los estadios del vector son susceptibles de transmitir la infección (Friedhoff, 1988; Taboada y Lobetti, 2006).

Los ixódidos deben succionar sangre cada vez que realizan un cambio de fase en su ciclo evolutivo, así como para la puesta de huevos. La inoculación de los esporozoítos al torrente circulatorio no la realizan inmediatamente al tomar contacto con el hospedador, sino transcurrido un período de dos a tres días desde que se establecen sobre él (Martinod *et al.*, 1985; Navarrete *et al.*, 1999; Taboada y Lobetti, 2006; Taylor *et al.*, 2007).

El ciclo evolutivo (figura 2) puede comenzar cuando la garrapata, hematófaga obligada, al succionar sangre del hospedador, le inocular los esporozoítos que se encuentran en sus glándulas salivales junto con sustancias anticoagulantes y vasodilatadoras. La garrapata debe alimentarse un mínimo de dos o tres días para que ocurra la transmisión de *Babesia canis* (Taboada, 1997). Estos esporozoítos, gracias a su complejo apical y a determinadas proteasas que segregan, penetran en los eritrocitos mediante endocitosis. En éstos, se inicia un proceso indefinido de multiplicación asexual por fisión binaria (esquizogonia o merogonia), acabando con la lisis de la célula sanguínea, de tal manera que deja en libertad a los merozoítos, que penetran en nuevas células hemáticas hospedadoras. Esta fase del ciclo se repetirá, más o menos veces, dependiendo principalmente de la patogenicidad de la cepa o del estado inmune del hospedador hasta que la enfermedad remite, por autoeliminación del proceso, o por tratamiento contra el parásito, determinándose de este modo la gravedad del proceso (Navarrete *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001).

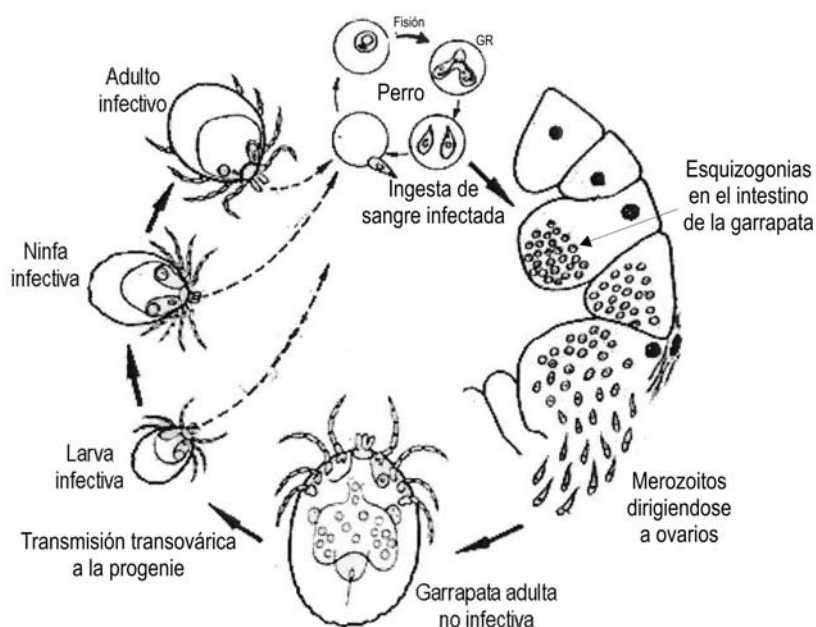


Figura 2: Ciclo biológico de *Babesia canis*

El mantenimiento de ciertos niveles de parasitemia, detectables o no por métodos laboratoriales, favorece el contagio de nuevos ixódidos que parasiten a animales enfermos o portadores inaparentes de babesiosis (Camacho *et al.*, 2004a). Tras la succión de sangre por parte de la garrapata, en el intestino de ésta, una vez liberada de su célula hospedadora, la *Babesia* se convierte en los denominados cuerpos radiados, que son los gametos masculinos y femeninos. Estos, en dos días, se fusionan, primero sus membranas y luego sus núcleos. Tras la fusión se forma un cigoto joven que por ser móvil, a diferencia de lo que ocurre en otros *Apicomplexa*, se le denomina ooquinetto; éste atraviesa el intestino y vía hemolinfática penetra en células de diversos órganos de la garrapata, tales como hemocitos, células musculares, células de túbulos de Malpighi, células ováricas, etc., iniciándose el proceso de la esporogonia. Esta multiplicación asexual comienza formándose el esporonte y los esporocistos los cuales invaden células adyacentes. Éstos últimos, al ser móviles, reciben el nombre de esporoquinetos (denominados antaño, versículos o vermículas). Todas las nuevas formas parasitarias formadas en células de distintos órganos y tejidos, si están en un macho de ixódido, permanecerán allí y morirán con él. Sin embargo, sea cual sea el lugar de su formación, en el caso de parasitación de hembras de garrapatas, todos ellos pasarán a los oocitos, de ahí a los huevos y a una nueva generación del ixódido.

Los esporoquinetos llegarán hasta las glándulas salivales de las larvas, ninfas o adultos de la nueva generación de garrapatas, reproduciéndose de nuevo asexualmente, con lo que culmina la

esporogonia al formarse cientos de esporozoítos por cada alveolo glandular, donde permanecerán hasta ser inoculados cuando la garrapata ingiera sangre de un nuevo hospedador, completándose de esta manera el ciclo vital del parásito.

Cuando se produce la transmisión transestadial, los esporoquinetos llegan de nuevo a las glándulas salivales del siguiente estadio de la garrapata en el momento en que ésta comienza a alimentarse y posteriormente cuando la garrapata madura las formas parásitas (los esporozoítos) se hacen infecciosas (Navarrete *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007).

Se ha demostrado que algunas especies de *Babesia* pueden transmitirse a través del ovario durante dos o más generaciones de garrapatas hembras, esto se conoce como transmisión vertical (Urquhart *et al.*, 2001).

3.1.4.1. LAS GARRAPATAS

Las garrapatas son ácaros cosmopolitas, ectoparásitos hematófagos obligados de los vertebrados, sobre todo de mamíferos y aves, aunque algunas de ellas desarrollan parte de sus ciclos biológicos en reptiles, siendo este reservorio importante en zonas donde la relación entre las poblaciones de garrapatas y hospedadores es elevado. Por su gran tamaño, al menos en el estado adulto, resultan observables a simple vista. Si se comparan con otras especies de ectoparásitos las garrapatas tienen períodos de vida prolongados que dependen en gran medida de las condiciones climáticas del medio. Son estas condiciones las que van a provocar grandes variaciones en cuanto a distribución y ciclo biológico (Casado *et al.*, 2004; Urquhart *et al.*, 2001).

Las garrapatas poseen gran importancia tanto en medicina humana como en medicina veterinaria, siendo patógenas para sus hospedadores tanto por acción directa (hematofagia, parálisis) como por la inoculación de organismos patógenos. Después de los mosquitos, son los vectores de mayor importancia en la transmisión de enfermedades tanto a animales como al hombre, y son los artrópodos que transmiten una mayor diversidad de agentes patógenos como virus, bacterias, rickettsias, protozoos (*Babesia*, *Hepatozoon*, etc.) (tabla 1), hongos y metazoos (Filarias) (Venzal *et al.*, 2003; Zygnier y Wedrychowicz, 2006; Taylor *et al.*, 2007). Habitualmente el agente patógeno está en estado de “reposo” en el interior de la garrapata, hasta que recibe determinados estímulos como son el aumento de humedad y de temperatura, que tienen lugar durante la alimentación. En el caso de los protozoos, dicha estimulación produce la replicación del parásito en la glándula salival de la garrapata y su posterior inoculación en el hospedador. Así, para que la garrapata pueda transmitir la forma infecciosa debe permanecer sobre el hospedador un mínimo de 24 a 48 horas (Casado *et al.*, 2004; Taylor *et al.*, 2007).

GARRAPATAS VECTORAS	AGENTE ETIOLÓGICO
<i>Dermacentor reticulatus</i>	<i>Babesia canis canis</i>
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>Babesia canis vogeli</i>
<i>Ixodes hexagonus</i>	<i>Babesia annae</i>

Tabla 1: Especies de garrapatas que transmiten la babesiosis en España (Camacho *et al.*, 2004b)

Las especies de garrapatas conocidas en la actualidad no llegan al millar. Se dividen en varias familias: Ixodidae, que incluye a las garrapatas duras, que son las que parasitan con mayor frecuencia a los carnívoros domésticos, Argasidae o garrapatas blandas y una tercera denominada Nuttalliellidae, compuesta por una única especie descrita en África (*Nuttalliella namaqua*), y que apenas presenta interés como parásito de los animales domésticos (Encinas *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2007).

3.1.5. EPIDEMIOLOGÍA

La distribución de la babesiosis de los carnívoros es prácticamente mundial, habiendo sido diagnosticada en todos los continentes en mayor o menor grado (Navarrete y Nieto, 1999; Taboada y Lobetti, 2006).

En España la babesiosis canina está causada por tres especies/subespecies de *Babesia* diferentes: *Babesia canis vogeli* transmitida por *Rhipicephalus sanguineus* y distribuida por toda la Península Ibérica, *Babesia canis canis* transmitida por *Dermacentor reticulatus* y distribuida por la Cornisa Cantábrica, y *Babesia annae* que se encuentra en el norte peninsular donde coexiste con su vector, *Ixodes hexagonus*. La situación geográfica de Galicia, con un entorno fresco y húmedo apropiado para la supervivencia de los ixódidos, hacen que esta zona presente un especial riesgo para la presencia de casos clínicos de esta última forma de babesiosis (Camacho, 2003; Camacho *et al.*, 2004b).

Son enfermedades estacionales, no por ellas mismas, sino como consecuencia de esta característica de sus vectores, los ixódidos. Sin embargo, en algunas zonas de España la estacionalidad se pierde, pudiendo aparecer a lo largo de todo el año en aquellos lugares cuyas condiciones climáticas, en lo que a temperatura y a humedad se refiere, permiten la presencia activa del hospedador invertebrado durante todas las estaciones (Navarrete y Nieto, 1999).

La babesiosis aparece con mayor frecuencia en primavera y otoño; de hecho, estas son las épocas del año en las que se diagnostican la mayor parte de los casos (Camacho *et al.*, 2004a). Las

formas infectivas de *Babesia* proceden de los ixódidos infectados, de los animales enfermos de babesiosis y, sobre todo, de los llamados portadores sanos, que son aquellos carnívoros que estando parasitados no presentan ninguna sintomatología que haga sospechar de su capacidad de transmisión del parásito (Navarrete y Nieto, 1999).

El contagio se origina por la picadura de la garrapata, cuando ésta succiona sangre del hospedador vertebrado. También puede producirse a través de transfusiones sanguíneas, material quirúrgico o agujas hipodérmicas (Navarrete y Nieto, 1999; Lappin, 2007), así como por vía transplacentaria, puesto que se ha descrito la existencia de cachorros de menos de tres semanas de edad infectados por *B. canis* (Breitschwerdt *et al.*, 1983; Harvey *et al.*, 1988; Navarrete y Nieto, 1999; Taboada y Lobetti, 2006) y cachorros parasitados por *B. gibsoni* (Navarrete y Nieto, 1999; Fukumoto *et al.*, 2005). En ambos casos, las madres eran portadoras del parásito y resultaba imposible que su transmisión hubiese sido por garrapatas (Navarrete y Nieto, 1999). Otra posible vía de contagio es el contacto directo de la sangre de un perro infectado con otro sano, algo que se puede producir fácilmente en el transcurso de una pelea. Esto ha sido ampliamente demostrado en el caso de *B. gibsoni* en Estados Unidos (Irizarry-Rovira *et al.*, 2001; Macintire *et al.*, 2002; Birkenheuer *et al.*, 2003b, Birkenheuer *et al.*, 2005), Japón (Matsuu *et al.*, 2004; Ikadai *et al.*, 2004; Miyama *et al.*, 2005) y Australia (Jefferies *et al.*, 2007a), pero no en perros infectados por *B. canis*.

La aptitud de los perros juega un papel importante en el riesgo de exposición a las garrapatas; así, los perros de caza están más expuestos que los de compañía que pasan más tiempo en el interior de las casas. El sexo no parece influir claramente, aunque ciertos estados fisiológicos como son la gestación o la lactancia parecen predisponer a la enfermedad. La edad es un factor importante; los cachorros por debajo de los dos meses de edad podrían estar protegidos por los anticuerpos maternos, siempre y cuando las madres no sean portadoras (Camacho *et al.*, 2004a). En estudios realizados en Estados Unidos y Australia, donde son frecuentes las infecciones por *Babesia canis vogeli*, son los perros jóvenes, entre los dos meses y los dos años de edad, los más susceptibles (Irwin y Hutchinson, 1991; Taboada y Merchant, 1991; Taboada, 1998). No obstante, en un estudio con 989 perros llevado a cabo en el suroeste de Francia, donde *Babesia canis canis* es endémica, son los perros mayores de 5 años los que representan un mayor porcentaje, con un 65% del total (Cabannes *et al.*, 2002). En relación a la raza, los Galgos presentan cierta predisposición racial a la infección por *Babesia canis* (Taboada *et al.*, 1992; Taboada y Lobetti, 2006) y los American Staffordshire Terrier y los American Pit Bull Terrier a la infección por *Babesia gibsoni* (Birkenheuer *et al.* 1999; Birkenheuer *et al.*, 2003c; Macintire *et al.*, 2002; Taboada y Lobetti, 2006). Un estudio realizado en Hungría sugiere que el Pastor Alemán también muestra cierta predisposición a padecer babesiosis (Hornok *et al.*, 2006). Sin embargo, a pesar de todo esto, en un estudio realizado en el noroeste de España no se han encontrado

diferencias estadísticamente significativas entre el padecimiento de babesiosis canina y la aptitud, edad, raza y sexo de los animales (Goicoa *et al.*, 1999a).

Por otra parte, la esplenectomía, el tratamiento con corticoterapia o la existencia de enfermedades concurrentes (*Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi*, *Leishmania spp.* y otras) también facilitan el que se manifieste clínicamente este proceso en perros asintomáticos (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998; Boozer y Macintire, 2003; Camacho *et al.*, 2004a; Taboada y Lobetti, 2006).

3.1.6. FISIOPATOGENIA

La patogenia de la babesiosis está determinada en primer lugar por factores dependientes del parásito, como son la especie y la subespecie, y en segundo lugar por algunos factores del hospedador, como son la edad, el estado nutricional, la presencia de enfermedades concomitantes o la introducción en una zona endémica sin que haya tenido un contacto previo con el parásito. Finalmente, muchos de los mecanismos patogénicos son el resultado de la respuesta inmunitaria generada por el hospedador frente al parásito más que de la destrucción directa de los glóbulos rojos por el parásito (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998; Navarrete y Nieto, 1999; Boozer y Macintire, 2003; Camacho *et al.*, 2004a; Taboada y Lobetti, 2006).

El período de incubación de *Babesia canis* tras la exposición al vector oscila entre 10 y 21 días (Breitschwerdt, 1984; Lobetti, 1998; Boozer y Macintire, 2003), sin embargo, experimentalmente, perros inoculados con sangre infectada con *B. canis* mostraron parasitemia transitoria el primer día tras la inoculación, a continuación, los organismos desaparecían de la sangre periférica durante unos 10 días. A las dos semanas se desarrollaba una segunda y más intensa parasitemia, apareciendo el pico máximo alrededor del día 20 tras la inoculación (Breitschwerdt, 1984).

En general, la acción patógena de las especies de *Babesia* llamadas pequeñas es mucho mayor que la de las denominadas grandes (Conrad *et al.*, 1991; Taboada y Merchant, 1991; Camacho *et al.*, 2005); sin embargo, dentro del grupo de las especies de *Babesia* importantes en la medicina de los animales de compañía, la *Babesia* grande *B. canis rossi* es la más virulenta y una excepción a la regla (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998). Si bien en un principio se pensaba que la mayor o menor acción patógena no estaba determinada por la presencia en mayor o menor grado de parásitos en sangre (Navarrete y Nieto, 1999), dos estudios, uno realizado en Sudáfrica con perros infectados por *B. canis rossi* (Böhm *et al.*, 2006) y otro realizado en Croacia con perros infectados supuestamente por *B. canis canis* (Matijatko *et al.*, 2009), demostraron la relación existente entre una tasa alta de parasitemia y la muerte de estos animales. Además, los resultados de un estudio experimental recientemente realizado por Schetters *et al.* (2009) están en concordancia con esta última teoría, ya que, mientras que los perros a los que se les inoculaban bajas concentraciones de eritrocitos

parasitados podían sobrevivir sin tratamiento, los animales a los que se les administraban elevadas concentraciones morirían de shock hipotensivo sino se les aplicara el tratamiento babesicida, lo que pone de manifiesto que la evolución está directamente relacionada con la carga parasitaria.

En la babesiosis están involucrados dos mecanismos de acción patógena diferentes, que dan lugar a dos síndromes, uno caracterizado por el shock hipotensivo inducido por mediadores inflamatorios y otro por la anemia hemolítica, que a su vez provocan la mayoría de los signos clínicos observados en los animales con babesiosis (Taboada y Merchant, 1991; Boozer y Macintire, 2003; Camacho *et al.*, 2004a).

Las especies de *Babesia* más patógenas son capaces de desarrollar un síndrome de shock hipotensivo, que causa hipoxia y extensos daños tisulares, *Babesia canis rossi* y *Babesia bovis* son los principales parásitos que lo producen. La génesis de este síndrome es multifactorial y no se conoce en su totalidad. Su mecanismo fisiopatológico comienza con la elevación de la calicreína plasmática en los animales infectados, ya que ciertas especies de *Babesia* contienen una proteasa, que además de tener propiedades directamente hipotensivas, puede también activar la calicreína contribuyendo a la hipotensión. Todo esto sugiere que esta enzima o sus productos pueden desempeñar un importante papel en la patogenia de las babesiosis, originando vasodilatación de capilares y pequeños vasos, aumento de la permeabilidad capilar y edema perivascular (Taboada y Merchant, 1991; Camacho *et al.*, 2004a). La liberación de aminas biogénicas (histamina, 5-hidroxitriptamina) puede ser desencadenada por la liberación inicial de quininas y produce sinérgicamente mayor vasodilatación y shock hipotensivo (Taboada y Merchant, 1991).

El estasis sanguíneo provocado por la aglomeración de células parasitadas dentro de los lechos capilares es un hallazgo importante en esta forma grave de la enfermedad, el cual provoca la hipoxia y el consiguiente daño tisular, originando de esta forma muchos de los signos clínicos encontrados, como por ejemplo el descenso del nivel de hematocrito. La sedimentación más grave ocurre en el sistema nervioso central y en los músculos. Entre los factores implicados en el desarrollo del estasis vascular están los propios parásitos, las alteraciones en los eritrocitos y en las membranas endoteliales, y los cambios en las propiedades físicas del plasma (Taboada y Merchant, 1991; Taboada y Lobetti, 2006).

Como ya hemos dicho, las cepas más virulentas de *Babesia* producen unas proteasas solubles capaces de incrementar la actividad plasmática de la calicreína, la cual, además de contribuir a la hipotensión, activa la coagulación intravascular mediante su acción sobre el factor de Hageman o factor XII (activación de la vía intrínseca de la coagulación), dando lugar a una complicación devastadora de la babesiosis como es la aparición de una coagulación intravascular diseminada (CID) (Moore y Williams, 1979). Sin embargo, mientras algunos autores confirman el diagnóstico de un CID en el 20% de los perros infectados por *Babesia canis* (Ruiz de Gopegui *et al.*, 2005), en estudios

anteriores se afirma que este estado de hipercoagulabilidad no se corresponde con un CID, pero si es una alteración grave en el metabolismo del fibrinógeno (Taboada y Merchant, 1991).

Por otro lado, las especies y cepas de *Babesia* de menor virulencia causan normalmente anemia hemolítica y pirexia, por lo que muchos autores las engloban dentro del síndrome de anemia hemolítica (Taboada y Merchant, 1991; Boozer y Macintire, 2003).

Han sido propuestos diferentes mecanismos como responsables de la hemólisis de las células sanguíneas rojas: mecánicos, inmunomediados y tóxicos, éstos últimos mediante la producción de factores hemolíticos por el parásito (Onishi *et al.*, 1990; Bourdeau y Guelfi, 1995). La parasitemia intraeritrocitaria provoca hemólisis tanto intravascular como extravascular, que da lugar a anemia regenerativa, hemoglobinemia, hemoglobinuria y bilirrubinuria (Maegraith *et al.*, 1957; Breitschwerdt, 1984; Lappin, 2009). La alteración producida directamente por estos hemoparásitos es la más importante en la patogenia de la hemólisis, pero la destrucción inmunomediada de los eritrocitos también juega un papel muy importante (Taboada y Merchant, 1991; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2009). De hecho, la anemia presente en los animales infectados no siempre es proporcional al grado de parasitemia; así, animales con una importante parasitemia pueden no presentar anemia, mientras que otros, en los que se detectan pocos parásitos, pueden estar muy anémicos. Esto es reflejo de la existencia de un componente inmunomediado, debido a que los eritrocitos infectados incorporan antígenos de *Babesia* a sus membranas, induciendo la formación de anticuerpos antimembrana eritrocítica que dan lugar a complejos antígeno-anticuerpo que se fijan a la membrana de los hematíes, parasitados o no, dando lugar a que sean fagocitados y eliminados por células del sistema mononuclear-fagocítico (fenómeno de eritrofagocitosis), agravándose el cuadro anémico (Camacho *et al.*, 2004a; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2007; Lappin, 2009). Cabe señalar que en un estudio, casi el 85% de los perros con babesiosis fueron positivos en pruebas de antiglobulinas directas (Test de Coombs) (Farwell *et al.*, 1982).

Así pues, la anemia se produce por la lisis de los eritrocitos, los cuales son destruidos por la salida de los parásitos, pero además, contribuyen a su desarrollo el incremento de la fragilidad eritrocitaria (resistencia osmótica disminuida) y la eritrofagocitosis (Boozer y Macintire, 2003).

La pirexia también es un hallazgo muy común en las infecciones por *Babesia* (Breitschwerdt, 1984). Probablemente su aparición ocurre de forma secundaria a la liberación de pirógenos endógenos durante la eritrolisis, la destrucción parasitaria y la activación de mediadores inflamatorios (Breitschwerdt, 1984; Jacobson y Clark, 1994; Lappin, 2009).

Asimismo, la hepatoesplenomegalia es frecuente en estos pacientes debido a la hiperplasia del sistema monocitofagocitario (Breitschwerdt, 1984; Couto, 2009; Lappin, 2009) e incluso puede ocurrir la torsión del bazo en casos extremos (Breitschwerdt, 1984).

3.1.6.1. CLASIFICACIÓN DE LA BABESIOSIS CANINA

Para conseguir la mejor definición de las diferentes formas de la babesiosis canina han sido propuestos varios modelos de clasificación (Moore y Williams, 1979; Jacobson y Clark, 1994). El más reciente divide clínicamente la enfermedad en dos formas, no complicada y complicada, basándose en los criterios propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la malaria (Jacobson y Clark, 1994).

3.1.6.1.1. BABESIOSIS NO COMPLICADA

Los signos típicos de la babesiosis no complicada son los atribuidos, en su mayoría, a la anemia hemolítica; mientras que la babesiosis complicada incluye aquellas manifestaciones que no pueden ser explicadas directamente por la hemólisis, pero que parecen ser el resultado de la respuesta inflamatoria por parte del huésped (Jacobson y Clark, 1994).

Las babesiosis no complicadas se dividen a su vez en leves y graves en función de la severidad de la anemia. Una babesiosis no complicada leve, que es aquella en la cual el hematocrito del paciente es superior al 20%, puede evolucionar a grave (hematocrito inferior al 20%) y poner de este modo en peligro la vida del animal, llegando a alcanzar hematocritos inferiores al 15% y, en ocasiones, incluso al 5% (Lobetti, 1998). Cabe destacar que la anemia intensa y aguda potencia el desarrollo de CID, acidosis metabólica y enfermedad renal (Lappin, 2007).



Figura 3: Cachorro letárgico y anoréxico debido a la infección por *Babesia canis*



Figura 4: Palidez extrema en mucosas

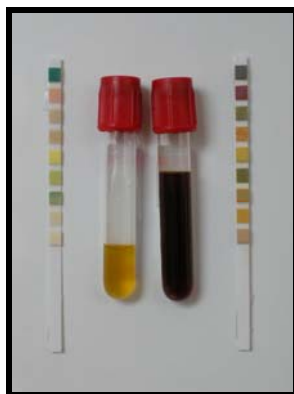


Figura 5: Bilirrubinuria y hemoglobinuria



Figura 6: Hemólisis y anemia característica de la babesiosis

3.1.6.1.2. BABESIOSIS COMPLICADA

Las complicaciones más graves y que llegan a amenazar la vida del animal pueden estar asociadas con una anemia hemolítica grave, y con frecuencia tienen un peor pronóstico del que tiene una anemia grave por sí sola (Jacobson y Clark, 1994). La presencia de estas complicaciones, y su relación irregular con el grado de anemia, plantea la hipótesis de que los mecanismos fisiopatológicos implicados en la babesiosis pueden ser similares a aquellos que se observan en otros procesos inflamatorios, como la malaria humana y la endotoxemia canina (Jacobson y Clark, 1994; Lobetti, 1998; Reyers *et al.*, 1998).

Las complicaciones observadas con mayor frecuencia son: fallo renal agudo, ictericia y hepatopatías, coagulopatías, anemia hemolítica inmunomediada, edema pulmonar, babesiosis cerebral, hemoconcentración y shock. Otras complicaciones menos habituales son: alteraciones gastrointestinales, pancreatitis, mialgias, lesiones oculares, signos respiratorios de vías aéreas superiores, disfunciones cardíacas, necrosis de las extremidades y cronificación de la enfermedad (Lobetti, 1998). También ha sido descrito un caso de una perra diagnosticada de babesiosis que presentaba una masiva efusión pleural bilateral sin edema pulmonar asociado. Esta complicación nunca había sido descrita en la babesiosis canina pero sí en pacientes con malaria. El origen de esta efusión no se ha podido establecer con claridad pero remitió completamente con el tratamiento antiparasitario (Fraga *et al.*, 2008a).

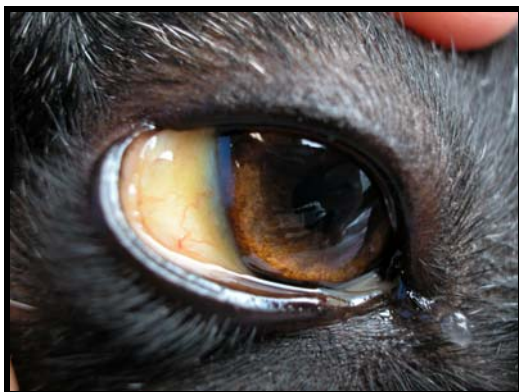


Figura 7: Conjuntiva ictérica



Figura 8: Ictericia cutánea



Figura 9: Ictericia y úlceras en la mucosa oral características del fallo hepático y renal

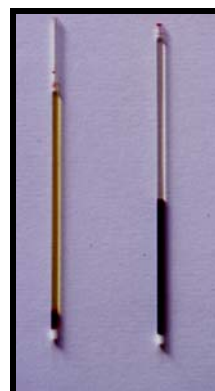


Figura 10: Microhematocrito con evidencia de anemia e ictericia

3.1.6.2. COMPLICACIONES MÁS FRECUENTES DE LA BABESIOSIS CANINA

Las complicaciones de la babesiosis canina guardan semejanza con las producidas en las infecciones por *Plasmodium falciparum* y por ello la babesiosis puede ser utilizada como un modelo valioso para el estudio de la malaria en los humanos. En ambas enfermedades un pequeño grupo de enfermos experimenta hemoconcentración, shock, signos neurológicos, fallo multiorgánico y otras complicaciones que condicionarán en gran medida el curso de la enfermedad (Reyers *et al.*, 1998; Boozer y Macintire, 2003).

3.1.6.2.1. FALLO RENAL AGUDO

Los términos insuficiencia renal o fallo renal se refieren al síndrome clínico que surge cuando los riñones no son capaces de mantener sus funciones reguladoras, excretoras y endocrinas, lo que produce una retención de solutos nitrogenados y alteración del equilibrio hídrico, electrolítico y acidobásico. La insuficiencia renal aparece cuando el 75% o más de la población de nefronas no es funcional (DiBartola, 2007). La insuficiencia renal aguda es consecuencia de un descenso brusco de la tasa de filtración glomerular y suele ser causada por una agresión isquémica o tóxica (Brown y Grauer, 2004).

Así, el fallo renal agudo es una complicación grave, en ocasiones mortal, que puede ser provocada por la babesiosis. Esta complicación es más frecuente en perros viejos y su pronóstico es mejor en jóvenes y animales poliúricos (Button, 1976). Su presentación varía en función de la virulencia de la subespecie de *Babesia* implicada (Jacobson y Clark, 1994; Boozer y Macintire, 2003), sin embargo, ahora se prefiere utilizar el término de “implicación renal”, ya que la existencia de un fallo renal verdadero es poco frecuente en la babesiosis canina (Lobetti y Jacobson, 2001).

Para su diagnóstico son necesarias valoraciones seriadas del volumen urinario, así como análisis de orina y del grado de azotemia (Lobetti, 1998; Lobetti y Jacobson, 2001). Los perros con fallo renal agudo secundario a la babesiosis suelen presentar oliguria o anuria a pesar de una adecuada terapia de rehidratación (Lobetti, 1998). En el urianálisis, la presencia de cilindros, células epiteliales renales y proteinuria son el hallazgo más común cuando existe un daño renal, pero su presencia no indica necesariamente un fallo renal (Jacobson y Clark, 1994).

La azotemia se define como un aumento de la concentración de los componentes nitrogenados no proteicos de la sangre, generalmente BUN y creatinina (DiBartola, 2007; Cowgill y Francey, 2007). Sin embargo, en algunos pacientes con babesiosis las mediciones séricas de BUN y creatinina no son válidas para determinar la presencia de una posible enfermedad renal (de Scally *et al.*, 2004, de Scally *et al.*, 2006; Lobetti, 2007b). Así, en un reciente estudio retrospectivo realizado en Sudáfrica que incluía 400 perros infectados por *Babesia canis*, la media y la mediana de la concentración del nitrógeno ureico sérico era aproximadamente el doble de los valores normales, mientras que la media y la mediana de la concentración de creatinina sérica estaba dentro de la normalidad (de Scally *et al.*, 2004). Estas elevaciones desproporcionadas del BUN, en comparación con la creatinina, se pueden atribuir al catabolismo de los eritrocitos lisados que ocasionan un incremento de la carga proteica en el hígado y consecuentemente, un aumento de la producción de nitrógeno ureico sanguíneo; aunque puede estar también asociado a una elevación generalizada del catabolismo proteico como resultado de la enfermedad febril e inflamatoria. Como otras posibles causas, mucho menos frecuentes, se incluyen las hemorragias gastrointestinales y la ingestión de alimentos ricos en proteínas, por ello, un

incremento aislado del nitrógeno ureico sérico es un factor irrelevante para valorar la insuficiencia renal en la babesiosis (Lobetti y Jacobson, 2001). Además, debemos tener en cuenta la posibilidad de que se produzcan errores laboratoriales debidos a la interferencia de los productos de la hemólisis (hemoglobina, bilirrubina) que pueden modificar los valores de la creatinina sérica (Weber y van Zanten, 1991; de Scally *et al.*, 2006).

En otras ocasiones, el incremento del BUN va acompañado de un aumento concomitante de la creatinina, atribuible a una disminución del flujo sanguíneo renal como resultado del descenso de la presión arterial y/o de la volemia (Lobetti y Jacobson, 2001; DiBartola, 2007). La hipotensión ocurre de forma frecuente en la babesiosis canina y su presencia y severidad se ven incrementadas conforme aumenta la gravedad de la enfermedad (Jacobson *et al.*, 2000).

En algunos casos, la elevación de la creatinina no se correlaciona con ningún otro parámetro utilizado para valorar la integridad de la función renal, ya que la creatinina puede tener un origen prerrenal. Sin embargo, un estudio realizado en Sudáfrica ha mostrado que esta elevación de la creatinina supone un incremento del riesgo de muerte en la babesiosis canina, lo que nos indica que puede ser útil para valorar la posibilidad de un posterior desarrollo de insuficiencia renal (Lobetti y Jacobson, 2001).

Los perros con babesiosis también tienen los valores de sodio sérico y la fracción de excreción de sodio disminuidos en relación a los animales sanos. En el caso de la fracción de excreción de sodio, que puede ser utilizada como indicador de disfunción tubular aguda; su descenso es atribuido, tanto a la inhibición de prostaglandinas, como a la retención renal de sodio secundaria a la secreción de aldosterona, producida por la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona en respuesta a la hipotensión arterial renal (Lobetti y Jacobson, 2001; Jacobson, 2006).

Los perros con babesiosis pueden presentar una correcta concentración urinaria debido a la retención de sodio y agua. Sin embargo, esta retención de sodio a veces es insuficiente, lo que da lugar a que algunos pacientes presenten hiponatremia, que puede ser indicativo de disfunción tubular renal precoz (Lobetti y Jacobson, 2001).

El papel de la hemoglobina en el fallo renal es muy controvertido. Aunque algunos autores han defendido que la hemoglobina no es nefrotóxica, y que la necrosis tubular se debe a la acción de “compuestos” liberados de la lisis de los eritrocitos, a la deshidratación y a la acidosis (Gerritsen y Van der Zwan, 1992), durante años se pensó que ésta era la responsable del desarrollo del fallo renal agudo en la babesiosis canina debido, fundamentalmente, a sus efectos mecánicos y tóxicos sobre los túbulos renales (Jacobson y Clark, 1994). Sin embargo, estudios más recientes indican que una hemoglobinemia grave no produce una nefropatía significativa y que, a pesar de que la hipoxia anémica produce una leve patología renal, ésta no se ve exacerbada por la hemoglobinemia (Lobetti *et*

al., 1996; Jacobson, 2006; Máthé *et al.*, 2007). Esta hipoxia anémica se debe fundamentalmente a la vasoconstricción renal provocada por la hipotensión sistémica y/o a la disfunción miocárdica que se producen en las infecciones de *B. canis* (Lobetti, 2007b). No obstante, la anemia y las alteraciones de la hemoglobina pueden contribuir a que se produzca una inadecuada suplementación de oxígeno (Máthé *et al.*, 2007). Además, hay otros factores que pueden estar implicados en la patogénesis del fallo renal agudo en la babesiosis como son los procesos inmunológicos e inflamatorios (Jacobson y Clark, 1994), así como la presencia de microtrombos que pueden producirse como consecuencia del desarrollo de una coagulación intravascular diseminada, que es otra posible complicación de esta enfermedad (Moore y Williams, 1979; Jacobson y Clark, 1994; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007).

Cabe señalar que el fallo renal agudo puede asociarse con rabdomiolisis, otra de las complicaciones poco frecuente de la babesiosis (Jacobson y Lobetti, 1996; Jacobson, 2006). Su diagnóstico está basado en la aparición de dolores musculares junto con una elevación importante de la creatín quinasa, mioglobinemias y mioglobinuria (Jacobson, 2006). En casos de babesiosis complicadas se han encontrado evidencias bioquímicas de lesiones musculares a pesar de que clínicamente pasen desapercibidas (Welzl *et al.*, 2001).

3.1.6.2.2. ALTERACIONES HEPÁTICAS

En algunos casos de babesiosis los pacientes muestran ictericia y elevación de los niveles de las enzimas hepáticas y de los ácidos biliares, lo cual indica la existencia de una alteración hepática. Sin embargo, no se conoce con exactitud si esta lesión es causada por el efecto de citoquinas inflamatorias, por el daño hipóxico, o bien, es una combinación de ambos (Taboada y Lobetti, 2006). La ictericia suele aparecer en casos ya avanzados de babesiosis canina y, en las formas graves, está asociada a un incremento de la mortalidad (Jacobson y Clark, 1994).

Según Jacobson y Clark (1994), la alteración hepática como única complicación es muy extraña en los casos producidos por *Babesia canis rossi* y suele ir acompañada de otras, como puede ser la pancreatitis, que está estrechamente asociada a estados de ictericia (Mohr *et al.*, 2000). La ictericia también incrementa ligeramente el riesgo de hipoglucemia (Keller *et al.*, 2004). Los niveles séricos de bilirrubina están muy elevados en perros afectados de babesiosis con anemia grave (Reyers *et al.*, 1998). Esto puede reflejar una ictericia de origen prehepático, pero en la babesiosis la ictericia no parece estar causada únicamente por la hemólisis o la obstrucción hepática (Jacobson, 2006; Taboada y Lobetti, 2006). En general, los daños hepáticos que conllevan ictericia incluyen lesiones difusas y periportales, mientras que en los perros ictericos con babesiosis las lesiones son centrolobulares, pudiendo aparecer desde congestión centrolobular hasta necrosis (Jacobson y Clark, 1994; Taboada y Lobetti, 2006). No obstante, es posible que el hígado presente una lesión difusa, leve o moderada, que no cause cambios histológicos apreciables, pero que sí sea lo suficientemente grave

como para producir cambios funcionales. A este respecto, se sabe que el daño hipóxico puede producir una inflamación hepatocelular difusa, por lo que en los casos de babesiosis graves, esta inflamación puede ser suficiente como para causar una hepatopatía transitoria (Taboada y Lobetti, 2006).

Así, en la babesiosis, se considera que existe una hepatopatía cuando aparece una marcada bilirrubinemia y bilirrubinuria y una notoria coloración amarillenta de las mucosas (Jacobson, 2006). Otro criterio para valorar la presencia de alteraciones hepáticas son los incrementos de los valores séricos de las enzimas hepatobiliares, como la alanina-aminotransferasa (ALT), la aspartato-aminotransferasa (AST), la fosfatasa alcalina (ALP) y la γ -glutamyl-transpeptidasa (GGT), dado que después de una lesión hepatobiliar se produce un aumento constante de su concentración (Center, 1996; Bush, 1999). No obstante, aunque estas enzimas séricas son muy sensibles para detectar la enfermedad hepatobiliar, su falta de especificidad dificulta la interpretación de las anomalías. La función principal del hígado en el metabolismo y su elevado flujo sanguíneo le hacen excepcionalmente sensible a las lesiones secundarias. Por tanto, existen varias alteraciones clínicas en las que pueden estar elevadas las enzimas hepáticas, pero en las que puede no existir una enfermedad hepatobiliar clínicamente importante. Aunque la magnitud del aumento de las enzimas séricas normalmente es proporcional a la gravedad de la lesión hepatobiliar activa, el grado de aumento no predice la capacidad funcional hepatobiliar. Un aumento marcado de las enzimas séricas puede indicar una lesión hepatobiliar grave pero, debido a la gran capacidad de regeneración hepática, no indica necesariamente un mal pronóstico (Webster, 2007). Sin embargo, se ha observado que tanto las alteraciones de la ALT como de la ALP son frecuentes en perros con babesiosis. Los valores séricos de la ALP están significativamente aumentados en los perros que mueren en relación a los supervivientes, mientras que las tasas de mortalidad se duplican si la concentración de la ALT es superior a 40 UI/l o con valores séricos de la ALP mayores a 180 UI/l (Jacobson, 2006).

3.1.6.2.3. COAGULOPATÍAS Y COAGULACIÓN INTRAVASCULAR DISEMINADA (CID)

La trombocitopenia es la alteración hemostática más manifiesta y constante en la babesiosis y un hallazgo rutinario tanto en los casos complicados como en los no complicados (Moore y Williams, 1979; Kettner *et al.*, 2003). No obstante, la aparición de hemorragias en perros afectados de *Babesia* es muy poco frecuente, incluso en el caso de presencia de una trombocitopenia grave, lo que aumenta la posibilidad de que mecanismos adicionales, como la disfunción plaquetaria, sean necesarios para precipitar la aparición de hemorragias (Jacobson y Clark, 1994).

La mayoría de las hemorragias graves, las cuales pueden estar asociadas con trombos, suelen aparecer en órganos como el cerebro, riñones, corazón, hígado, pulmones e incluso en los músculos (Moore y Williams, 1979). Aunque no todos los casos graves, incluso los que acaban causando la muerte del animal, cursan con hemorragias (Maegraith *et al.*, 1957; Jacobson y Clark, 1994).

La babesiosis está asociada a hemólisis, lesiones en el endotelio vascular, acidosis, hipoxia, estasis vascular, shock, y la posibilidad de un estado de endotoxemia; todas las cuales predisponen al CID (Jacobson y Clark, 1994; Couto, 2009). Este síndrome, también denominado coagulopatía de consumo, es una reacción sistémica resultante de la activación generalizada de todas las rutas de coagulación. Es siempre secundario a otra enfermedad, pero sus efectos pueden predominar en el cuadro de la enfermedad primaria. La enfermedad primaria provoca una trombosis diseminada, que produce un consumo de factores de la coagulación y de las plaquetas e inicia una fibrinólisis incontrolada. En el estado inicial de hipercoagulación se forman trombos de fibrina en los vasos de menor diámetro, causando isquemia capilar y lesiones orgánicas locales. Estas alteraciones del sistema de coagulación pueden ocasionar hemorragias masivas, hipoxia tisular, fracaso orgánico y a menudo la muerte (DuFort y Matros, 2007; Couto, 2009).

En la babesiosis, los signos clínicos observados están relacionados con el funcionamiento anormal de los distintos órganos afectados por los microtrombos (particularmente riñones, hígado, tracto gastrointestinal, pulmones y sistema nervioso central) y, en los estados más avanzados, por verdaderas hemorragias (Moore y Williams, 1979).

El diagnóstico de un CID es complicado debido a la enfermedad subyacente. Su diagnóstico presuntivo puede estar apoyado por distintos hallazgos hematológicos, incluyendo una anemia hemolítica regenerativa (aunque, ocasionalmente, cuando el animal tiene un desorden crónico la anemia es no regenerativa), hemoglobinemia (causada por la hemólisis intravascular), presencia de fragmentos eritrocitarios o esquistocitos, trombocitopenia, neutrofilia con desviación a la izquierda y, raramente, neutropenia. También se pueden encontrar diversas anormalidades bioquímicas características como son la hiperbilirrubinemia, causada por la hemólisis o la trombosis hepática, la azotemia e hiperfosfatemia en caso de producirse una grave microembolización renal, el incremento de la actividad de las enzimas hepáticas causado por la hipoxia o la microembolización hepática, o la panhipoproteinemia si el sangrado es suficientemente grave. El urianálisis normalmente revela hemoglobinuria, bilirrubinuria y, ocasionalmente, proteinuria y existencia de cilindros renales. Las alteraciones hemostáticas más frecuentes en perros con CID incluyen la trombocitopenia, la prolongación del tiempo de tromboplastina parcial activada y del tiempo de protrombina y la existencia de una concentración de fibrinógeno normal o disminuida (Couto, 2009).

Tradicionalmente se han utilizado los productos de la degradación de fibrina (PDF) para diagnosticar y tratar la coagulación intravascular diseminada. Sin embargo, esta prueba carece de especificidad porque utilizan anticuerpos policlonales frente al fibrinógeno, la fibrina y los fragmentos de la fibrina. Por este motivo, actualmente se prefiere para su diagnóstico la determinación del dímero D. El dímero D es una proteína formada como consecuencia de la degradación de la plasmina de la fibrina entrecruzada. Durante la coagulación de la sangre, el fibrinógeno se convierte en fibrina por

acción de la trombina. Los monómeros resultantes de fibrina se polimerizan para formar un gel insoluble de fibrina no entrecruzada. Este gel se convierte en fibrina entrecruzada por acción del factor XIII activado por la trombina y que da lugar al coágulo de fibrina insoluble. La producción de plasmina, la principal enzima responsable de la lisis del coágulo, viene desencadenada por la formación del coágulo de fibrina. Aunque la fibrina y el fibrinógeno son degradados por la plasmina para originar PDF, sólo los productos de la degradación procedentes de la fibrina entrecruzada contienen el dímero D. Por tanto, la elevación de la concentración de esta sustancia es un marcador específico de la lisis del coágulo. Esta prueba tiene un valor predictivo negativo extraordinario. Es decir, un resultado negativo de la prueba de dímero D descarta una CID con una confianza del 99,5% (DuFort y Matros, 2007).

3.1.6.2.4. ANEMIA HEMOLÍTICA INMUNOMEDIADA (AHI)

La AHI es una complicación que puede aparecer asociada a la babesiosis (Jacobson y Clark, 1994; Taboada y Lobetti, 2006; Giger, 2007). Este proceso aparece cuando la respuesta inmunitaria tiene como diana los eritrocitos de forma directa o indirecta e induce a una anemia hemolítica. Hasta que se identifiquen los anticuerpos frente a los eritrocitos y se comprenda mejor su patogenia, la nomenclatura y clasificación de las AHI sigue siendo poco precisa y en ocasiones confusa (Day, 2000). En la AHI primaria no se conoce la causa responsable, de forma que se denomina también AHI idiopática o anemia hemolítica autoinmunitaria. Por otro lado, las formas secundarias se asocian a un trastorno de base, como fármacos, vacunas, infecciones emergentes, picaduras de insectos, neoplasias u otros procesos inmunitarios. La babesiosis y la hemobartonelosis son los ejemplos más claros de agravamiento de la hemólisis por una respuesta inmunitaria (Giger, 2007; Couto, 2009).

Sea cual sea la causa de base, la AHI se debe a la alteración de la autotolerancia inmunitaria. El proceso de delección clonal para conseguir la tolerancia central no es capaz de eliminar por completo todos los clones de linfocitos B con capacidad autorreactiva. La anergia clonal, otro mecanismo de control central, no es totalmente eficiente para inactivar los linfocitos B encargados de la respuesta frente a los antígenos propios. Por tanto, se produce una respuesta inmunitaria frente a los eritrocitos (Day, 1999). Como algunos de los antígenos de los eritrocitos están ocultos o encriptados, los linfocitos B sólo pueden encontrarse con ellos cuando una lesión de la membrana los deja expuestos. Un proceso inflamatorio o infeccioso puede liberar también antígenos nuevos a la circulación que reaccionan de forma cruzada con los antígenos de los eritrocitos o se fijan a la membrana de estas células. Además los linfocitos T adecuados deben encontrarse con sus correspondientes linfocitos B y unirse a través de pares de receptor-ligando para activar la célula correspondiente. Sin embargo, durante las infecciones y procesos inflamatorios se produce una activación inespecífica de los linfocitos, lo que permite inducir anticuerpos autorreactivos de forma inespecífica (Giger, 2007).

La unión de anticuerpos de tipo IgG o IgM y complemento a la superficie de los eritrocitos inicia la destrucción inmunitaria de los mismos. En la mayoría de las circunstancias clínicas, la destrucción inmunitaria es un proceso extravascular que depende del reconocimiento de los eritrocitos opsonizados por IgG, complemento o ambos, por parte de receptores específicos en las células reticuloendoteliales (Giger, 2007; Couto, 2009). En un estudio reciente, en el que se determinó el inmunofenotipo de las poblaciones celulares mediante citometría de flujo, se demostró que, en el momento del diagnóstico de la babesiosis, el porcentaje medio de IgG e IgM unido a la membrana de los eritrocitos dependía, en gran medida, de la especie de *Babesia* causante de la infección, siendo éste mucho menor en los perros infectados por *B. canis canis* que en los infectados por *B. canis vogeli*. Este hallazgo sugiere que el mecanismo inmunomediado puede jugar un papel importante en la patogénesis de la anemia hemolítica en las infecciones producidas por *B. canis vogeli*, al igual que ocurre en los casos producidos por *B. gibsoni*, pero no así en las infecciones por *B. canis canis*. Se ha señalado que esta diferencia puede ser debida a que *B. canis vogeli* suele provocar enfermedades crónicas leves, normalmente asintomáticas y que a menudo van acompañadas de otras patologías concomitantes en el momento de su diagnóstico, que pueden contribuir en la acción patógena del parásito. Esta presencia crónica de los parásitos puede ocasionar un daño inicial en las células sanguíneas rojas y con el tiempo, la exposición de los antígenos internos de los eritrocitos, lo que provocará la producción de anticuerpos específicos antieritrocitos. Además, la simple presencia crónica del protozoo puede propiciar una respuesta inmune por parte del organismo del animal, produciendo anticuerpos e inmunocomplejos, que se adhieren a la membrana de los eritrocitos provocando la ruptura de los mismos (Carli *et al.*, 2009).

La AHI puede ser un proceso leve o poner en riesgo la vida del animal. El hematocrito suele disminuir de forma precipitada en cualquier momento por la hemólisis activa. Aunque deberíamos observar una anemia regenerativa, macrocítica e hipocrómica, hasta una tercera parte de las mascotas con AHI presentan una anemia no regenerativa cuando son explorados por primera vez (Jonas *et al.*, 1987; Klag *et al.*, 1993; Stokol *et al.*, 2000). Incluso la evolución de la enfermedad puede ser hiperaguda, sin tiempo para que se produzca la respuesta regenerativa, pero por lo general, se hacen regenerativas a los 3-7 días de la aparición del problema. Distinguir una anemia regenerativa de una no regenerativa es fundamental, ya que un perro o un gato con cambios regenerativos presenta un proceso hemolítico o hemorrágico que necesita una serie de pruebas diagnósticas adicionales y formas de tratamiento específicas (Feldman, 2007; Pastor, 2009). El recuento de reticulocitos es el único índice de reticulopoyesis eficaz, no obstante, para el uso adecuado de este parámetro se debe obtener el valor absoluto de reticulocitos corregido, en función de la masa eritrocítica de la mascota y de los efectos de la eritropoyetina (EPO) sobre la liberación medular de reticulocitos (Hillman y Finch, 1985; Feldman, 2007).

El diagnóstico de AHI pasa por demostrar una destrucción inmunitaria acelerada de los eritrocitos. Por lo tanto, además de comprobar la existencia de una anemia hemolítica, se deben buscar anticuerpos, complemento o ambos, frente a los eritrocitos. En conclusión, para realizar un diagnóstico de AHI, deben aparecer una o más de las características siguientes: esferocitosis marcada (eritrocitos esféricos, microcíticos sin palidez central, causados por una fagocitosis o lisis parcial), autoaglutinación verdadera o prueba de Coombs directa positiva. Los anticuerpos frente a los eritrocitos de tipo IgM e IgG pueden producir una autoaglutinación directa. La aglutinación puede resultar visible a simple vista cuando la sangre se coloca en un tubo con EDTA o en un porta de cristal (aglutinación macroscópica), o puede ponerse de manifiesto como pequeños agregados de eritrocitos en un frotis de sangre periférica teñido o en un frotis en fresco con suero salino (aglutinación microscópica) (Giger, 2007). La prueba de Coombs directa, o prueba de antiglobulina directa, se utiliza para detectar anticuerpos o complemento en la superficie de los eritrocitos de los gatos o perros, cuando la potencia de los anticuerpos frente a los eritrocitos o su concentración es demasiado baja para conseguir la autoaglutinación espontánea (Barker *et al.*, 1992; Barker *et al.*, 1993; Giger, 2007; Couto, 2009). Esta prueba es negativa en aproximadamente el 10-30% de los perros con AHI, aunque estos perros suelen responder bien a la terapia inmunosupresiva. En estos casos, existen suficientes inmunoglobulinas o moléculas complementarias unidas a las membranas de los eritrocitos como para inducir el sistema monocitofagocitario y estimular la fagocitosis, pero no son suficientes para resultar en una prueba de Coombs directa positiva (Couto, 2009).

La característica fundamental de la babesiosis asociada a la anemia hemolítica inmunomediada es la persistencia de la hemólisis a pesar de haber llevado a cabo un tratamiento efectivo contra *Babesia* (Jacobson y Clark, 1994).

3.1.6.2.5. EDEMA PULMONAR

El edema pulmonar es una complicación grave y con frecuencia mortal de la babesiosis que, generalmente, se desarrolla durante el período crítico de la misma (Jacobson y Clark, 1994).

El edema pulmonar se caracteriza por la acumulación de líquido en el intersticio y los alvéolos pulmonares. Clínicamente el paciente muestra un incremento repentino del ritmo respiratorio, lo cual también puede ser debido a otros factores, como la pirexia y la acidosis. Los signos clínicos están directamente relacionados con la causa y la gravedad del edema. La respiración se caracteriza, normalmente, por un aumento del esfuerzo observado durante la inspiración y la espiración debido al aumento de la rigidez pulmonar. Un edema pulmonar grave puede causar tos con expectoración de líquido sanguinolento. Para su diagnóstico, la radiografía torácica junto con la anamnesis y los hallazgos de la exploración física suelen ser suficientes. Por otro lado, la gasometría arterial confirmaría la presencia de un estado de hipoxemia, hipocapnia y aumento del gradiente A-a,

diferencia de la tensión de oxígeno entre la sangre alveolar (A) y arteriolar (a). Las anomalías analíticas son útiles para la determinación de la causa, en particular en el edema no cardiogénico (Nelson, 2004; Nelson y Sellon, 2007).

Los principales mecanismos para la producción de un edema pulmonar son el aumento de la presión hidrostática vascular, la disminución de la presión oncótica plasmática, el incremento de la permeabilidad de los capilares alveolares y la alteración del drenaje linfático (Nelson y Sellon, 2007). Su fisiopatología, cuando aparece como complicación secundaria de la babesiosis, no está bien descrita, pero el tercero de los mecanismos mencionados anteriormente parece ser el más probable. El incremento de la permeabilidad capilar puede ser el resultado de un CID, de un tromboembolismo pulmonar, de una enfermedad hepática o bien de un síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) (Jacobson y Clark, 1994). A este respecto, fue demostrado microscópicamente por Moore y Williams en 1979 un cuadro de CID en el tejido pulmonar, junto con congestión y edema, en un caso mortal de babesiosis. El tromboembolismo pulmonar también se ha descrito en perros con anemia hemolítica inmunitaria y el daño hepático es un hallazgo más o menos frecuente en la babesiosis canina (Jacobson, 2006). La uremia también puede provocar lesiones pulmonares en perros, pero no está demostrado que los pacientes afectados de babesiosis con uremia tengan un mayor riesgo de padecer edema pulmonar. Sin embargo, el SDRA es, con toda probabilidad, la mayor causa de edema pulmonar en la babesiosis (Jacobson y Clark, 1994). Este síndrome provoca insuficiencia respiratoria hipoxémica aguda como resultado de la lesión pulmonar y el aumento de la permeabilidad capilar pulmonar. El SDRA no es una enfermedad en sí misma, sino un proceso secundario a numerosas patologías, normalmente críticas, siendo la septicemia una de las causas más frecuentes (Parent *et al.*, 1996; Nelson, 2004; Nelson y Sellon, 2007). Para su diagnóstico, la presencia de manifestaciones clínicas, horas o días después de la causa desencadenante, proporciona un elevado índice de sospecha. Las radiografías torácicas revelan un patrón intersticial de transición o alveolar que concuerda con un edema pulmonar no cardiogénico. La ecocardiografía es una técnica incruenta que puede aportar información para ayudar a diferenciar el SDRA de otras causas de edema pulmonar (Nelson, 2004; Nelson y Sellon, 2007).

Por otra parte, no se debe pasar por alto un posible incremento de la presión hidrostática pulmonar, sobre todo, desde que el daño miocárdico ha sido reconocido como una complicación de la babesiosis (Moore y Williams, 1979). Una sobrecarga iatrogénica de fluidos también puede ser la causa de un edema pulmonar, particularmente en aquellos pacientes oligúricos debido a un fallo renal. Cabe destacar que volúmenes de fluidos que son tolerados perfectamente por perros sanos, pueden agravar de forma fatal un edema pulmonar y la hipoxemia en perros con SDRA. En estos pacientes se debe mantener un volumen circulatorio inferior a la normalidad, administrando el menor volumen de líquido que mantenga el gasto cardíaco y la presión arterial (Nelson, 2004; Nelson y Sellon, 2007). Por

todo ello, la fluidoterapia debe ser instaurada con suma cautela en todos los pacientes con babesiosis (Jacobson y Clark, 1994).

3.1.6.2.6. HEMOCONCENTRACIÓN

Ciertos casos de babesiosis con ausencia de anemia, con hematocritos normales o incluso aumentados, están asociados con una respuesta inflamatoria aguda, muy exagerada, mediada por citoquinas, óxido nítrico, factor de activación plaquetario y eicosanoides. Este fenómeno paradójico es con frecuencia hiperagudo y aparece relacionado con una hemólisis intravascular masiva simultánea (con visible hemoglobinemia y/o hemoglobinuria) y un incremento de la permeabilidad vascular, dando como resultado un estado de hemoconcentración (Boozer y Macintire, 2003), es decir, una reducción del volumen sanguíneo como consecuencia del paso de abundantes volúmenes de fluidos del compartimiento intravascular al extravascular, permaneciendo normal la concentración plasmática de proteínas (Jacobson y Clark, 1994).

Los perros que padecen babesiosis sin anemia presentan a menudo una grave azotemia, alteraciones electrolíticas y del estatus ácido-base, y una mínima leucocitosis o incluso leucopenia (Reyers *et al.*, 1998). Esta respuesta inflamatoria puede ser tan grave como para provocar la muerte del animal sin que de tiempo a que se produzca una respuesta leucocítica significativa por parte de la médula ósea, ni a que se desarrolle un estado hemolítico con destrucción eritrocitaria (Boozer y Macintire, 2003).

La hemoconcentración puede estar asociada a otras complicaciones como la babesiosis cerebral, babesiosis cerebral junto con CID, fallo renal agudo, fallo renal y edema pulmonar o fallo renal con implicación muscular (Jacobson y Clark, 1994).

3.1.6.2.7. ALTERACIONES CARDIOCIRCULATORIAS

Diversos estudios han demostrado la existencia de lesiones cardíacas en la babesiosis canina. La mayoría de ellas son hallazgos ocasionales en el examen post-mortem y son consideradas complicaciones poco frecuentes (Jacobson y Clark, 1994; Lobetti, 1998; Dvir *et al.*, 2004). Sin embargo, hasta la fecha, la prevalencia de estas lesiones está escasamente descrita (Lobetti, 2005; Spotswood *et al.*, 2006). Las lesiones encontradas han sido necrosis focales en el miocardio con infiltrados de macrófagos y neutrófilos, hemorragias subepicárdicas y subendocárdicas, microtrombos en el miocardio (Moore y Williams, 1979; Taboada, 1998), hidropericardio y hemopericardio (Moore y Williams, 1979; Ristic y Kreier, 1984; Taboada, 1998). También fue descrita una dilatación de los vasos cardíacos, conteniendo éstos una cantidad importante de eritrocitos parasitados así como parásitos libres (Maegraith *et al.*, 1957).

El diagnóstico de una posible afección cardíaca se puede realizar con ayuda de las troponinas, en especial la troponina I (cTnI) y la troponina T (cTnT), ya que son biomarcadores muy sensibles que reflejan la muerte de las células miocárdicas. Por ello, son utilizadas en cardiología humana para el diagnóstico del infarto de miocardio (Schober, 2007). Las investigaciones en animales han demostrado que las pruebas de inmunoanálisis de cTnI y cTnT diseñadas para su uso en seres humanos, pueden ser utilizadas con confianza para detectar lesiones miocárdicas en perros y gatos, dado que la inmunorreactividad de las troponinas es similar entre las especies (Lobetti, 2002; Rishniw *et al.*, 2004; Lobetti, 2005; Burgener *et al.*, 2006; Schober, 2007; Sleeper, 2008). Así, la elevación de la concentración plasmática de cTnI parece ser proporcional a la gravedad de la enfermedad cardíaca en la babesiosis canina (Lobetti, 2002; Lobetti, 2005).

Estas troponinas son indicadores muy sensibles y persistentes del daño miocárdico, con una gran especificidad tisular, más que otros marcadores utilizados para indicar la presencia de lesiones de la musculatura esquelética, la enfermedad hepática o el fallo renal crónico. Esta consideración es importante en el caso de la babesiosis, sobre todo en sus formas complicadas, en las cuales el fallo renal, la insuficiencia hepática y la rabdomiolisis pueden ocurrir (Lobetti, 2005). No obstante, estudios recientes han demostrado que los valores de las troponinas, concretamente de la cTnI, pueden aparecer elevados en perros y gatos azotémicos, debido a una insuficiencia renal, o bien con otras enfermedades sistémicas no cardíacas. Los autores del estudio sugieren que esto puede ser debido a un daño miocárdico clínicamente inaparente o a una posible alteración en la eliminación de la cTnI (Porciello *et al.*, 2008). Cabe destacar que, en el caso de la babesiosis, la sensibilidad diagnóstica de la cTnT para detectar el daño miocárdico es menor que la de la cTnI (Lobetti, 2002; Lobetti, 2005), lo cual está de acuerdo con otros estudios realizados en perros (Burgener *et al.*, 2006; Schober, 2007; Sleeper, 2008).

Diversos estudios bioquímicos han demostrado que la utilización de la cTnI es más sensible para poner en evidencia lesiones miocárdicas que la determinación de “enzimas cardíacas” tradicionales, como la lactato deshidrogenasa (LDH), la creatín quinasa (CK), la α -hidroxibutirato deshidrogenasa (α -HBDH), la mioglobina isoenzima de CK (CK-MB) o el propio electrocardiograma (ECG), y que estos aumentos anormales de la cTnI se correlacionan directamente con la gravedad de la enfermedad. La AST, la LDH, la CK, la CK-MB o el α -HBDH son también marcadores muy sensibles del daño en células miocárdicas, pero carecen de especificidad cardíaca (Schober, 2007). En la babesiosis estas variables pueden aparecer falsamente aumentadas debido a la presencia de alteraciones musculares y hepáticas de forma conjunta (Lobetti, 2005).

Los cambios en el ECG en la babesiosis son multifactoriales, no específicos y son similares a los patrones descritos para la miocarditis e isquemia miocárdica. Estos cambios, junto con las lesiones histopatológicas encontradas, nos indican que el sufrimiento cardíaco se origina siguiendo el mismo

proceso patológico descrito para otros órganos en la babesiosis canina, como son la inflamación y la hipoxia. Los hallazgos más frecuentes son las arritmias, el bloqueo seno-atrial, las contracciones ventriculares prematuras y el bloqueo atrio-ventricular (Jacobson y Clark, 1994; Lobetti, 1998; Dvir *et al.*, 2004).

Jacobson *et al.* (2000) han demostrado que la hipotensión es frecuente en esta patología y que tanto su presencia como su intensidad están asociadas a la gravedad de la enfermedad. Por otro lado, este mismo autor comprobó que no existe una relación significativa entre la presión sanguínea y la edad, el ritmo del pulso, el ritmo respiratorio, la temperatura rectal o el hematocrito (Jacobson, 2006).

Esta hipotensión se atribuye al incremento de la permeabilidad capilar, con el paso de líquidos hacia el intersticio, a la reducción del tono vascular con encharcamiento venoso y a la depresión miocárdica. Así, según Lobetti (2005), una explicación posible para la hipotensión en la babesiosis canina es la afección miocárdica.

Se ha comprobado que, en general, la hemodinámica de la arteria aorta abdominal y de los vasos esplénicos en perros con babesiosis es similar a los casos de anemia normovolémica o por hemodilución, y refleja un estado cardiovascular hiperdinámico, es decir, un aumento del flujo y disminución de la resistencia vascular debido a una reducción en la viscosidad sanguínea como resultado del descenso del hematocrito. En contraste, la hemodinámica renal presenta un estado hipodinámico, con un incremento de la velocidad de flujo y de la resistencia. Esto es debido a un sistema de autorregulación renal poco esclarecido, que como respuesta a un aumento del flujo sanguíneo produce vasoconstricción e incremento de la resistencia vascular renal (Koma *et al.*, 2005).

También se ha sugerido que puede existir una conexión entre el fallo cardíaco y el renal. Así, el fallo cardíaco precoz provoca una redistribución del flujo sanguíneo, lo que produce una reducción del flujo sanguíneo renal y del índice de filtración glomerular (Lobetti, 2005).

Asimismo, la hiponatremia y la reducción de la fracción de aclaramiento de sodio (Lobetti y Jacobson, 2001) están asociadas con la retención de agua y la expansión del volumen plasmático (Schetters, 1998; Lobetti, 2005). Este incremento del volumen plasmático acentúa el sufrimiento miocárdico y compromete aun más la función cardíaca (Lobetti, 2005).

3.1.6.2.8. PANCREATITIS AGUDA

La pancreatitis aguda ha sido reconocida como una nueva y potencial complicación de la babesiosis canina (Mohr *et al.*, 2000). Se trata de un trastorno agudo del páncreas que se produce cuando se rebasan los mecanismos fisiológicos de protección propia debido a la secreción de enzimas pancreáticas activadas (Hall, 2004).

Según Jacobson (2006) la pancreatitis suele estar asociada a otras complicaciones y tiene un índice de mortalidad elevado (32%). En la mayoría de los casos no se consigue diagnosticar hasta que transcurren varios días tras el ingreso del paciente. Suele afectar a perros jóvenes (con una media de edad de tres años) y sexualmente intactos. La ictericia, los vómitos, la melena, el dolor abdominal y la diarrea son hallazgos comunes. Es posible que esta pancreatitis aguda pueda representar la forma conocida antiguamente como “visceral” (“gut form”) de la babesiosis (Mohr *et al.*, 2000).

La anemia hemolítica, junto con las lesiones pancreáticas producidas por la isquemia y la reperusión, han sido propuestas como el posible mecanismo fisiopatológico primario en el desarrollo de la pancreatitis aguda en la babesiosis; aunque también podrían estar involucrados el shock hipotensivo, la anemia hemolítica inmunomediada, la hemoconcentración y las posibles alteraciones del metabolismo lipídico causadas por *Babesia* (Mohr *et al.*, 2000; Jacobson, 2006).

3.1.6.2.9. BABESIOSIS CEREBRAL

Los signos cerebrales y cerebelares aparecen de manera ocasional en los casos complicados de malaria y babesiosis (Jacobson, 1994; Boozer y Macintire, 2003), pero su incidencia en las infecciones por *Babesia* es muy baja (Schetters y Eling, 1999; Jacobson, 2006).

La babesiosis cerebral se define clínicamente como aquella que cursa con signos neurológicos que no pueden ser atribuidos a otra causa. Estos signos incluyen incoordinación, paresia posterior, temblores musculares, nistagmo, anisocoria, agresividad, movimientos de pedaleo, vocalizaciones, alteraciones en el estado de consciencia, ataques epileptiformes, estupor y coma (Jacobson y Clark, 1994; Boozer y Macintire, 2003; Jacobson, 2006).

Las lesiones encontradas con mayor frecuencia en el cerebro de los perros afectados de babesiosis cerebral son la congestión, las hemorragias macroscópicas y microscópicas, y la presencia de eritrocitos parasitados en los lechos capilares (Moore y Williams, 1979; Jacobson y Clark, 1994), lo que provoca una respuesta inflamatoria y lesiones endoteliales localizadas, consideradas como la única lesión histológica en la babesiosis cerebral (Jacobson, 2006).

Por otro lado, la ataxia cerebelar, también descrita en la malaria, es una complicación raramente diagnosticada en la babesiosis canina (Jacobson, 1994). Puede manifestarse durante el período agudo de la enfermedad o comenzar más tarde, siendo ésta una más de las posibles alteraciones neurológicas en la babesiosis canina (Jacobson, 2006).

3.1.6.2.10. SHOCK

Tradicionalmente el shock se ha descrito como el efecto de trastornos circulatorios generalizados que provocan una perfusión tisular insuficiente. No obstante, la complejidad del estado de shock no es el resultado de la agresión inicial en si misma, sino de la respuesta sistémica a dicha agresión. Esto queda demostrado de forma más evidente en el shock séptico, en el que la serie de sucesos que llevan a un colapso cardiocirculatorio irreversible es debida a la respuesta inflamatoria sistémica desencadenada por los microorganismos infecciosos (Otto, 2007). El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), la sepsis y el shock séptico son situaciones clínicas que representan la progresión de la respuesta inflamatoria. La sepsis se define como un SRIS que puede ser atribuido a una infección confirmada (bacteriana, vírica, fúngica o protozoaria), mientras que la sepsis con hipotensión refractaria se clasifica como shock séptico (Bone *et al.*, 1992). Debido al hecho de que la babesiosis, al igual que la malaria en humanos, puede ser clasificada como una “sepsis protozoaria” (Bone *et al.*, 1992; Jacobson *et al.*, 2002), es lógico proponer que los mecanismos inflamatorios que ocurren en esta enfermedad son similares a aquellos que aparecen en otras condiciones sépticas y que pueden conducir a un SRIS y al consiguiente síndrome de disfunción multiorgánica (SDMO) (Matijatko *et al.*, 2009).

Por lo tanto, es posible que el shock producido por la babesiosis presente un cuadro cardiovascular con un estado hiperdinámico, seguido por un shock hipotensivo (Freeman *et al.*, 1994; Jacobson, 2006). El shock séptico ha sido documentado en personas tanto con malaria (Bruneel *et al.*, 1997) como con babesiosis (Dacey *et al.*, 2001) y más recientemente en perros infectados por *Babesia canis canis* (Matijatko *et al.*, 2009).

No obstante, en el caso de los perros infectados por *Babesia*, incluso cuando éstos se presentan en la clínica en estado de colapso, el “clásico” síndrome de shock puede no estar presente. Esto es debido, al menos en parte, a la hemodinámica de la anemia hemolítica. El pulso puede aparecer débil, la temperatura elevada o normal, y las mucosas, que normalmente aparecen pálidas o ictéricas en la babesiosis, están congestivas en estados de hemoconcentración; por lo que es probable que el estado de shock sea consecuencia directa de la crisis anémica que produce esta enfermedad (Jacobson y Clark, 1994).

3.1.6.3. SÍNDROME DE RESPUESTA INFLAMATORIA SISTÉMICA (SRIS) Y SÍNDROME DE DISFUNCIÓN MULTIORGÁNICA (SDMO)

Dadas las diversas manifestaciones clínicas de la babesiosis canina es difícil comprender la fisiopatología del parásito limitándonos únicamente a las alteraciones eritrocitarias. Las diferentes complicaciones de esta enfermedad son el resultado, probablemente, de una excesiva y poco conocida respuesta inflamatoria por parte del huésped, más que el producto de las lesiones producidas por el propio parásito. A pesar de la gran variedad de manifestaciones clínicas, los mecanismos que las promueven son muy similares (Jacobson y Clark, 1994; Lobetti, 1998).

El síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), que precede al síndrome de disfunción multiorgánica (SDMO), está causado por una excesiva liberación de mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios a la circulación sistémica en respuesta a diversas agresiones infecciosas o no infecciosas, desencadenando una reacción generalizada (Brady y Otto, 2001; Barton, 2007). En la babesiosis, entre estos mediadores destacan las citoquinas, el óxido nítrico, los radicales libres de oxígeno, los eicosanoides y los factores de activación plaquetarios (Jacobson y Clark, 1994; Lobetti, 1998).

Los signos clínicos del SRIS se producen por los efectos fisiopatológicos de los mediadores de la inflamación. El reconocimiento del SRIS como un suceso continuo implica que los signos clínicos varían desde trastornos leves hasta signos de disfunción orgánica y shock séptico. No existe un único conjunto de parámetros clínicos, de laboratorio y hemodinámicos que pueda describir todas las situaciones. En términos generales se considera que existe un SRIS cuando están presentes dos o más de los siguientes hallazgos clínicos: taquicardia, taquipnea o alcalosis respiratoria, hipotermia o hipertermia, leucocitosis o leucopenia con neutrofilia con desviación hacia la izquierda (Otto, 2002; Barton, 2007). Basándose en esta definición la mayoría de los pacientes con babesiosis presentan un SRIS (Lobetti, 1998; Jacobson y Clark, 1994). Otras posibles alteraciones pueden ser: disminución del estado cognitivo, pulsos periféricos espasmódicos o hipodinámicos, trombocitopenia, hipoalbuminemia, hipoglucemia, tiempos de coagulación prolongados, aumento de los productos de degradación de la fibrina, aumento del dímero D, disminución de la antitrombina, aumento de la bilirrubina, aumento de las enzimas hepáticas, aumento del BUN y de la creatinina, oliguria, acidosis láctica o hipoxemia (Brady y Otto, 2001; Barton, 2007).

Un SRIS agudo, a través de la secuencia de hipoperfusión, infección, inflamación y necrosis puede dar lugar al subsiguiente SDMO. Aunque los signos de disfunción de un único órgano suelen predominar en los casos de babesiosis canina, la implicación multiorgánica aparece en muchos animales (Lobetti, 1998).

El SDMO es el resultado final de una inflamación tisular iniciada por numerosas circunstancias, incluyendo la hipovolemia, el shock séptico y distintos agentes infecciosos como bacterias, virus, rickettsias, protozoos y hongos (Brady y Otto, 2001; Barton, 2007). La babesiosis puede causar, entre otros, una hipoxia tisular grave que da lugar a un daño tisular y a la liberación de mediadores inflamatorios; lo que provoca la inflamación y el daño multiorgánico (Lobetti, 1998).

El SDMO está perfectamente descrito en pacientes que padecen malaria, en los cuales el número de órganos afectados se correlaciona con la mortalidad (Welzl *et al.*, 2001). Es muy posible que estos datos se puedan extrapolar a la babesiosis canina, ya que la implicación multiorgánica ha sido demostrada en esta enfermedad tanto clínica como histopatológicamente (Jacobson y Clark, 1994).

Se ha demostrado que tanto el SRIS como el SDMO ocurren de forma frecuente en los casos complicados de babesiosis canina y que su evolución está asociada más fuertemente con las alteraciones orgánicas específicas que con la evidencia de una implicación multiorgánica. Los daños orgánicos específicos que se asocian con un peor pronóstico son los que afectan al cerebro, a los pulmones y a los riñones; mientras que las lesiones hepáticas y musculares, aunque se observan con frecuencia, no parecen tener tanta importancia en la evolución (Welzl *et al.*, 2001).

3.1.7. CUADRO CLÍNICO

El curso clínico de esta enfermedad varía considerablemente en función de diversos factores como son; la cepa y especie del parásito, la respuesta inmune del hospedador, su edad y condiciones nutricionales, higiénicas y sanitarias; así como la existencia de infecciones concurrentes o de exposiciones previas al organismo (Boozer y Macintire, 2003; Lappin, 2007).

El período de prepatencia es corto, oscilando entre 4-20 días, aunque podemos encontrar procesos que se presentan precozmente en 1-2 días. En los animales jóvenes, donde la respuesta inmune humoral es a menudo insuficiente (Taboada y Lobetti, 2006), las babesiosis suelen manifestarse de forma aguda, con un período prepatente de 4-6 días, y un período de patencia que oscila entre 7-10 días, tras los cuales puede sobrevenir la muerte (Navarrete y Nieto, 1999; Taylor *et al.*, 2007). En un estudio experimental realizado recientemente, se demostró que el período de prepatencia depende de la dosis infecciosa administrada al animal, es decir, de la concentración de eritrocitos parasitados que se le inoculan. De esta manera, en los perros que recibían la mayor dosis la infección se hacía patente a los 2-3 días posteriores a la inyección, mientras que en los que recibían la menor dosis la infección no se detectaba hasta los 5 días (Schetters *et al.*, 2009).

Los hemoparásitos aparecen por primera vez en sangre periférica a los ocho o nueve días de la picadura de garrapatas infectadas. Paralelamente al aumento de la parasitemia se eleva la temperatura

corporal, que puede alcanzar un máximo de 41°C a los dos o tres días de la primera detección de *Babesia* en la sangre (Navarrete y Nieto, 1999; Boozer y Macintire, 2003). Así, en el estudio experimental realizado por Schetters *et al.* (2009) observaron que la fiebre es el único parámetro cuya intensidad estaba directamente relacionada con la parasitemia que presentaba el animal. Este proceso febril suele acompañarse de deshidratación y temblores musculares, instaurándose una gran debilidad que lleva en ocasiones a la muerte en las primeras veinticuatro horas del comienzo de los signos clínicos (Navarrete y Nieto, 1999; Urquhart *et al.*, 2001; Boozer y Macintire, 2003; Taylor *et al.*, 2007).

Están descritas varias formas clínicas de presentación, hiperaguda, aguda, crónica y subclínica, relacionadas, sobre todo, con la especie de *Babesia* implicada. La forma hiperaguda es la menos frecuente y se caracteriza por importantes daños tisulares, shock, coma y muerte, con una historia clínica previa de un día o menos de anorexia y letargia. Tiene lugar sobre todo con las especies más patógenas de *Babesia* y en animales muy jóvenes. Habitualmente nos encontramos con un cuadro agudo, mostrándose el animal apático, anorético, febril, con ictericia, vómitos y hemoglobinuria. Estos perros suelen recuperarse con el tratamiento adecuado, no obstante, algunos no sobreviven, especialmente los cachorros y en ocasiones los adultos infectados por *B. gibsoni*. Esta forma de presentación aguda es la que suele ocurrir en las infecciones por *B. gibsoni* en Asia y Estados Unidos y en los casos producidos por *B. canis* en África, Australia y el sur de Europa. En la presentación crónica de esta enfermedad los perros muestran fiebre intermitente, disminución del apetito y empeoramiento progresivo del estado general. Esta forma puede evolucionar a subclínica resultando muy difícil observar los parásitos en sangre periférica. La mayoría de los perros infectados por *B. canis vogeli* en Estados Unidos son portadores subclínicos de la enfermedad. En estos animales los síntomas pueden aparecer cuando están estresados, cuando son tratados con corticosteroides, o bien si son sometidos a una esplenectomía (Abdullahi *et al.*, 1990; Irwin y Hutchinson, 1991; Navarrete y Nieto, 1999; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2007).

Los síntomas generales tales como deshidratación, anorexia, apatía, fiebre y palidez de mucosas son los observados con más frecuencia junto con la hemoglobinuria. La destrucción de los glóbulos rojos y, en consecuencia, la liberación de hemoglobina, que supera el dintel renal, produce esta hemoglobinuria, que es uno de los signos más constantes en la babesiosis (Irwin y Hutchinson, 1991; Furlanello *et al.*, 2005; Solano-Gallego *et al.*, 2008). La afectación del sistema monocitofagocitario se manifiesta con una considerable esplenomegalia, hepatomegalia y linfadenopatía generalizada (Irwin y Hutchinson, 1991; Máthé *et al.*, 2006a; Máthé *et al.*, 2006b; Taboada y Lobetti, 2006; Couto, 2009). La situación más grave de esta enfermedad la presentan los animales esplenectomizados o sometidos a algún tipo de inmunosupresión, en cuyo caso la enfermedad produce una elevada mortalidad (Irwin y Hutchinson, 1991; Máthé *et al.*, 2006b).

3.1.8. PRUEBAS LABORATORIALES

3.1.8.1. HEMATOLOGÍA Y PRUEBAS DE COAGULACIÓN

Las principales alteraciones hematológicas en animales con babesiosis son la anemia y la trombocitopenia (Abdullahi *et al.*, 1990; Pagés *et al.*, 1990; Irwin y Hutchinson, 1991; Taboada, 1997; Duh *et al.*, 2004; Furlanello *et al.*, 2005; Niwetpathomwat *et al.*, 2006; Taboada y Lobetti, 2006; Solano-Gallego *et al.*, 2008; Adaszek *et al.*, 2009). En los primeros días de la infección suele observarse anemia leve, normocítica, normocrómica, no regenerativa, que se convierte en macrocítica, hipocrómica y regenerativa a medida que progresa la enfermedad. La reticulocitosis es proporcional a la gravedad de la anemia, observándose macrocitosis y policromasia en la extensión de sangre periférica. También aparece elevado el índice de destrucción de hematíes (IDH), lo que da origen a la anisocitosis (Taboada y Merchant, 1991; Furlanello *et al.*, 2005; Taboada y Lobetti, 2006). Si bien la gravedad de la anemia es muy variable en las distintas infecciones por *Babesia*, cuanto mayor es su grado, mayor es a su vez la presencia de eritroblastos, policromasia y poiquilocitosis en la extensión de sangre periférica, así como el número de hematíes con cuerpos de Heinz y corpúsculos de Howell-Jolly (Boozer y Macintire, 2003; Camacho *et al.*, 2004a). En un estudio reciente, se ha detectado una gran variación en la frecuencia y el tipo de anemia en función de la especie de *Babesia* implicada, así en los perros infectados por *B. canis canis* la anemia aparecía en un 92% de los casos y era no regenerativa en la gran mayoría de ellos (94%), mientras que en los animales infectados por *B. canis vogeli* la anemia era menos frecuente (67%) y mostraba signos de regeneración de leves a moderados (Carli *et al.*, 2009).

En la babesiosis canina también se han descrito fenómenos de eritrofagocitosis y leucofagocitosis, aunque es un hallazgo poco común en extensiones de sangre periférica (Ruiz de Gopegui *et al.*, 2004). La autoaglutinación puede afectar aproximadamente a un 20% de los perros (Jacobson y Clark, 1994).

Una situación extrema es el caso de perros esplenectomizados, donde el gran número de parásitos en sangre circulante, junto con una elevada presencia de corpúsculos de Howell-Jolly intraeritrocitarios, son el reflejo de la carencia de este órgano y de la gravedad de la inmunosupresión (Camacho *et al.*, 2004a; Taboada y Lobetti, 2006).

En cuanto a la serie blanca no siempre encontramos anormalidades y cuando aparecen puede tratarse de leucocitosis, leucopenia, neutrofilia, neutropenia, linfocitosis, eosinofilia o eosinopenia (Abdullahi *et al.*, 1990; Taboada y Merchant, 1991; Boozer y Macintire, 2003; Dantas-Torres y Figueredo, 2006; Niwetpathomwat *et al.*, 2006; Taboada y Lobetti, 2006; Fraga *et al.*, 2008b). La fórmula leucocitaria puede mostrar una tendencia hacia la neutrofilia con desviación a la izquierda,

presencia de linfocitos atípicos, macrófagos vacuolizados y eosinopenia casi constante, que son el resultado de la descarga corticoidea inducida por el estrés provocado por la enfermedad (Abdullahi *et al.*, 1990; Taboada y Merchant, 1991; Boozer y Macintire, 2003). En ocasiones también es posible observar una reacción leucemoide, es decir, una leucocitosis reactiva que aparece como una forma de respuesta medular a la enfermedad subyacente, similar a aquella que se produce en las anemias hemolíticas inmunomediadas (Lobetti, 1995; Taboada y Lobetti, 2006). Es frecuente en las formas más graves la presencia de cuerpos de Döhle, inclusiones de forma ovalada o rectangular fuertemente basófilas, en el citoplasma de los granulocitos (Abdullahi *et al.*, 1990; Taboada y Merchant, 1991; Boozer y Macintire, 2003).

El perfil hemostático aparece alterado en un gran número de casos de babesiosis canina. Estos cambios afectan a la hemostasia primaria (trombocitopenia), a la coagulación (prolongación del tiempo de protrombina, del tiempo de activación parcial de la tromboplastina y del tiempo de trombina), a la concentración del fibrinógeno y a la fibrinólisis (Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007).

La trombocitopenia es un fenómeno muy común en los perros infectados por *Babesia canis* (Pagès y Trouillet, 1984; Abdullahi *et al.*, 1990; Irwin y Hutchinson, 1991; Taboada, 1997; Duh *et al.*, 2004; Baric Rafaj *et al.*, 2005; Furlanello *et al.*, 2005; Niwetpathomwat *et al.*, 2006; Taboada y Lobetti, 2006; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007; Zygnier *et al.*, 2007; Solano-Gallego *et al.*, 2008; Adaszek *et al.*, 2009), pudiendo afectar hasta un 99,5% de los perros, según un estudio reciente realizado en Polonia (Zygnier *et al.*, 2007). En la mayoría de los casos la trombocitopenia es grave, aunque sin efectos clínicos aparentes (Pagès y Trouillet, 1984; Goicoa *et al.*, 1999b; Kettner *et al.*, 2003; Baric Rafaj *et al.*, 2005; Taboada y Lobetti, 2006). Su alta incidencia puede ayudar al diagnóstico de la babesiosis en aquellos perros en los cuales los signos clínicos son compatibles con la enfermedad pero no se logra observar el parásito en la extensión sanguínea (Pagès y Trouillet, 1984; Kettner *et al.*, 2003). Las diferencias existentes en función de la especie de *Babesia* implicada parecen indicar que el grado de trombocitopenia está relacionado en gran medida con la patogenicidad de la especie y cepa del parásito (Kettner *et al.*, 2003).

El mecanismo por el cual se reduce el número de plaquetas no se conoce con exactitud (Boozer y Macintire, 2003; Furlanello *et al.*, 2005), pero es probable que sea debido a una combinación de factores. Algunos autores la atribuyen a la existencia de enfermedades concurrentes como la ehrlichiosis monocítica canina (Kettner *et al.*, 2003), mientras que otros apuntan que podría deberse al secuestro esplénico, a la acción de anticuerpos antiplaquetarios, o bien, a un consumo elevado en los casos de CID (Pagès y Trouillet, 1984; Boozer y Macintire, 2003) o a la existencia de graves daños vasculares (Taboada y Lobetti, 2006; Solano-Gallego, 2008a).

La presencia de plaquetas gigantes, detectadas en las extensiones de sangre periférica, refleja el carácter regenerativo de la trombocitopenia (Abdullahi *et al.*, 1990; Camacho *et al.*, 2004a; Ruiz de

Gopegui *et al.*, 2007). Sin embargo, este hecho puede, en algunos casos, estar supervalorado por la presencia de agregados plaquetarios en las extensiones (Abdullahi *et al.*, 1990; Camacho *et al.*, 2004a). No obstante, en los últimos años, gracias a los nuevos analizadores hematológicos, ha ganado importancia el uso de los índices plaquetarios a la hora de interpretar las trombocitopenias que producen las enfermedades sistémicas en los perros. Así, el volumen plaquetario medio (MPV) representa la media del tamaño plaquetario y el ancho de distribución plaquetaria (PDW) la heterogeneidad de este tamaño (Bommer *et al.*, 2008). En estudios realizados en humanos y en perros, las elevaciones del MPV se han relacionado con un adecuado incremento del número de megacariocitos en las citologías de médula ósea (Karparkin y Garg, 1974; Northern y Tvedten, 1992; Sullivan *et al.*, 1995). Además, el incremento del número de plaquetas debería incrementar la heterogeneidad plaquetaria, por lo que el PDW también aumentaría durante la reacción de la médula ósea ante una trombocitopenia (Bommer *et al.*, 2008), gracias a lo cual, este índice ha sido utilizado en personas para diferenciar entre una posible trombocitopenia inmunomediada y una anemia aplásica (Kaito *et al.*, 2005).

A pesar de que han sido propuestos rangos de referencia tanto para el MPV como para el PDW en distintos estudios llevados a cabo en perros (Moritz *et al.*, 2004; Moritz *et al.*, 2005), debemos tener en cuenta que los valores de los índices plaquetarios siempre han de ser interpretados en función del número de plaquetas, ya que existe una relación inversa entre el MPV y el PDW con respecto al número total de plaquetas. Por lo que si no tenemos en cuenta esta relación, los valores de estos índices en perros trombocitopénicos pueden ser falsamente exagerados o infraestimados cuando los comparemos con perros normales (Bommer *et al.*, 2008).

En lo que respecta a la babesiosis, varios estudios han descrito el aumento de estos parámetros en perros infectados por *Babesia canis* (Baric Rafaj *et al.*, 2005; Furlanello *et al.*, 2005; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007; Zygnier *et al.*, 2007; Fraga *et al.*, 2009), lo que se ha asociado con una liberación de plaquetas inmaduras desde la médula ósea durante la respuesta trombopoyética, que como ya hemos comentado, es frecuente en perros con trombocitopenia inmunomediada.

Entre los principales mecanismos propuestos para justificar estas alteraciones de la hemostasia se incluye la respuesta de fase aguda, el daño endotelial provocado por la hemólisis y la interacción de los eritrocitos parasitados con las células endoteliales (Schetters, 2005; Ulutas *et al.*, 2005; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007). La respuesta de fase aguda se desarrolla cuando existe cualquier daño tisular (infección, inflamación o trauma), como parte de la inmunidad innata de cada individuo, y se caracteriza por el aumento de la concentración en el plasma de las proteínas de fase aguda (Gabay y Kushner, 1999; Ceron *et al.*, 2005). Esta concentración se correlaciona con la gravedad de la causa subyacente y nos proporciona una forma de evaluar la presencia y la extensión de la enfermedad, así como la eficacia del tratamiento, tanto en medicina humana como veterinaria (Steel y Whitehead,

1994; Pannen y Robotham, 1995; Martínez-Subiela *et al.*, 2002; Martínez-Subiela *et al.*, 2003; Gruys *et al.*, 2005; Ulutas *et al.*, 2005). En la babesiosis canina provocada por *B. canis*, se produce un incremento importante de estas proteínas de fase aguda. Algunas de ellas, como la proteína C reactiva y el amiloide A sérico, han demostrado mayor sensibilidad a la hora de diagnosticar la babesiosis que otros marcadores inflamatorios utilizados habitualmente, como el número total de glóbulos blancos o la tasa de sedimentación eritrocitaria. Además, la medición secuencial de sus concentraciones nos aporta información importante acerca de la respuesta al tratamiento frente al hemoprotoso (Matijatko *et al.*, 2007).

Por otra parte, el fibrinógeno es otro marcador inflamatorio utilizado con frecuencia en veterinaria y la presencia de hiperfibrinogenia es un hallazgo común en los perros infectados por *Babesia*, tanto de forma natural (Furlanello *et al.*, 2005; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007) como experimental (Schetters *et al.*, 2009). No obstante, hay que tener en cuenta que la presencia de un CID puede provocar hipofibrinogenia y que, aunque la respuesta de fase aguda induce a este estado, ésta puede estar oculta por la fibrinogenolisis secundaria causada por el CID (Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007).

3.1.8.2. BIOQUÍMICA SÉRICA

En la babesiosis los valores de la bioquímica sérica convencional suelen ser normales, si bien las alteraciones de estos parámetros están relacionadas con la gravedad de la enfermedad y el grado de hipoxia (Taboada, 1997; Furlanello *et al.*, 2005; Niwetpathomwat *et al.*, 2006; Taboada y Lobetti, 2006). Con frecuencia encontramos incrementos en la actividad sérica de la aspartato aminotransferasa (AST), de la alanina aminotransferasa (ALT) y de la fosfatasa alcalina (ALP), hiperbilirrubinemia, hipoproteinemia, hipoalbuminemia y anormalidades en el estatus ácido-base y de los electrolitos (Pagès *et al.*, 1990; Lobetti, 1998; Furlanello *et al.*, 2005). La hiperbilirrubinemia es un hallazgo constante en los perros con babesiosis aguda provocada por las diferentes subespecies de *B. canis*, pero no por *B. gibsoni* (Irwin y Hutchinson, 1991; Vercammen *et al.*, 1997).

La ALT es una enzima citosólica específica del hígado. El mayor aumento de la ALT sérica, una enzima de filtración, se observa en la necrosis hepatocelular aguda y en la inflamación hepática. La magnitud del aumento de ALT es proporcional al número de hepatocitos lesionados. No obstante, en los perros, la ALT sérica también puede estar aumentada en la necrosis muscular grave, en los tratamientos con fenobarbital o corticosteroides, o en casos de neoplasias hepáticas primarias o metastáticas. La AST en el suero es más sensible que la ALT para detectar enfermedades hepatobiliares, aunque es considerablemente menos específica porque el músculo también contiene cantidades significativas de esta enzima (Webster, 2007). Así, el aumento de la AST puede estar en consonancia, no tanto con la afección hepática descrita en la babesiosis (necrosis centrolobulillar con

colestasis), sino con la afección muscular (temblores causados por la fiebre, mialgias, atonías musculares, adelgazamiento) lo que estaría corroborado por el incremento de las concentraciones de enzimas como la creatín fosfoquinasa (CPK) y la lactato deshidrogenasa (LDH) (Camacho *et al.*, 2004a). En general, el aumento de la AST sérica es paralelo al de la ALT sérica, por lo que, en los casos en los que la AST está mucho más elevada que la ALT, debe buscarse el origen muscular de este aumento. No obstante, dado que la AST está presente en las mitocondrias y en el citosol celular, un aumento de la proporción AST/ALT puede sugerir la existencia de una lesión irreversible grave aguda (Webster, 2007). Por otra parte, aunque el aumento de la ALP en el suero es un indicador sensible de enfermedad hepatobiliar, su baja especificidad en casos de hepatopatía hace confusa su interpretación. La baja especificidad de la ALP se asocia a la presencia de varias isoenzimas y a que presenta una sensibilidad única a la inducción farmacológica. Las isoenzimas de la ALP están presentes en el hígado, el riñón, el intestino, los huesos y la placenta, si bien las isoenzimas del intestino, el riñón y la placenta no contribuyen en las concentraciones de la ALP sérica debido a su corta vida media. La isoenzima del hueso supone cerca de un tercio de la ALP sérica total. Así, el aumento de la actividad de los osteoblastos, que se asocia al crecimiento de los huesos en los animales jóvenes, o con alteraciones patológicas como osteomielitis u osteosarcoma, causa habitualmente un aumento leve de la ALP sérica total (Webster, 2007).

La acidosis metabólica es otro hallazgo común en la babesiosis y al parecer, contribuye a la morbilidad y mortalidad (Taboada y Merchant, 1991; Nel *et al.*, 2004). No obstante, no suele ser ésta la única alteración en el equilibrio ácido-base de estos pacientes y comúnmente va asociada a la alcalosis respiratoria (Leisewitz *et al.*, 2001). En perros que padecen una babesiosis grave la acidosis metabólica es debida, principalmente, a un incremento del ácido láctico, que aparece como resultado de la hipoxia tisular y del incremento del metabolismo. La concentración del ácido láctico sanguíneo tiene un alto valor pronóstico en la babesiosis, como también ocurre en otras enfermedades de alto riesgo para la vida del animal como la dilatación-vólvulo gástrica y, de modo general, en todos los pacientes que precisan cuidados intensivos (Nel *et al.*, 2004; Jacobson y Lobetti, 2005).

Por lo que respecta a la función renal en la babesiosis, el BUN y la creatinina están levemente elevados (Boozer y Macintire, 2003; Máthé *et al.*, 2006b), pudiendo corresponder estos hallazgos a la deshidratación causada por la anorexia y la hipertermia del animal. Sin embargo, en un cierto porcentaje de casos existe una clara afectación renal con niveles de BUN y de creatinina incrementados, pudiendo guardar relación con la congestión de los capilares interlobulares y la degeneración del epitelio tubular causada por la hemoglobinuria presente en la enfermedad. En otros casos se debe a una glomerulonefritis inducida por inmunocomplejos, que es corroborado por la elevación de los inmunocomplejos circulantes (Boozer y Macintire, 2003).

En ocasiones nos encontramos con un aumento de la concentración del nitrógeno ureico sanguíneo mientras que la creatinina permanece normal, esto es debido al catabolismo de los parásitos lisados o, con menor frecuencia, a la presencia de hemorragias gastrointestinales (Lobetti, 1998). No obstante, como ya hemos comentado, en algunos pacientes con babesiosis las mediciones séricas de BUN y creatinina no son válidas para determinar la presencia de una posible enfermedad renal (de Scally *et al.*, 2004, de Scally *et al.*, 2006; Lobetti, 2007b). Debido a esto, actualmente se está ensayando en perros la medición de la cistatina C sérica, un excelente indicador de la tasa de filtración glomerular, que es a su vez, el parámetro más exacto a la hora de valorar la función excretora renal (Almy *et al.*, 2002; Antognine *et al.*, 2005; de Scally *et al.*, 2006; Antognine *et al.*, 2007; Pagitz *et al.*, 2007; Wehner *et al.*, 2008). La medición de sustancias plasmáticas que aumentan su concentración de forma más o menos proporcional al grado de insuficiencia renal es la manera más cómoda y generalizada de estimación indirecta del filtrado glomerular. Así, la medición de la concentración de creatinina sérica es, hasta el momento, la técnica más utilizada para estimar la función renal. Sin embargo, debemos tener en cuenta que la concentración sérica de creatinina depende no sólo de su excreción renal, sino también de factores relacionados con su producción muscular, como son la edad, el sexo y las características morfológicas de cada paciente (James *et al.*, 1988; Levey *et al.*, 1989; Perrone *et al.*, 1992; Braun *et al.*, 2003).

La cistatina C es un inhibidor endógeno de la cisteín-proteasa que pertenece al tipo 2 de la superfamilia de las cistatinas. Su forma madura y activa está constituida por una sola cadena polipeptídica no glicosilada de 120 aminoácidos, con una masa molecular de 13,359 kilo Dalton (kDa) (Mussap y Plebani, 2004). La cistatina C es producida por las células nucleadas y liberada durante la fagocitosis y la inflamación. La mayor función de esta proteína es el control de la inflamación mediante la inhibición de las proteasas lisosomales (Warfel *et al.*, 1987). Además, ayuda a la regulación intra y extracelular del catabolismo proteico y peptídico, así como a la penetración de las células cancerígenas al interior de los tejidos (Hall *et al.*, 1995). También se ha demostrado que esta proteína posee propiedades antimicrobianas (Korant *et al.*, 1985; Björck *et al.*, 1990; Collins y Grubb, 1991). En todos los tejidos se produce cistatina C a una velocidad constante y al contrario que la creatinina, es independiente de la edad y el sexo (Simonsen *et al.*, 1985; Lah *et al.*, 1992; Randers *et al.*, 2001; DiBartola, 2007). No obstante, existen algunas dudas acerca de si la inflamación o las neoplasias pueden afectar a su concentración sérica (DiBartola, 2007). La cistatina C está presente en casi todos los fluidos biológicos, siendo especialmente abundante en el líquido cefalorraquídeo, el plasma seminal, la leche y el líquido sinovial (Brzin *et al.*, 1984).

El empleo de la cistatina C como marcador de la función renal es la aplicación clínica más estudiada, aunque recientemente su utilidad como posible factor de riesgo cardiovascular ha despertado también gran interés (Jernberg *et al.*, 2004; Koenig *et al.*, 2005; Shlipak *et al.*, 2005).

Además, la aportación de esta proteína en el diagnóstico de enfermedades del sistema nervioso central está siendo igualmente objeto de estudio, debido a su presencia en el líquido cefalorraquídeo (Nagai *et al.*, 2000; Reiber, 2001; Mannes *et al.*, 2003; Nagai *et al.*, 2003; Sánchez *et al.*, 2004).

La cistatina C cumple la mayoría de los criterios de marcador ideal de la tasa de filtración glomerular, ya que es filtrada por el glomérulo sin que exista ninguna secreción tubular. La molécula pasa fácilmente a través del glomérulo gracias a su bajo peso molecular y a su carga positiva en un pH fisiológico. Se cataboliza completamente dentro de las células de los túbulos proximales, por lo que su concentración en la orina es muy baja (Simonsen *et al.*, 1985). La cistatina C es eliminada exclusivamente por los riñones (Tenstad *et al.*, 1996) y en medicina humana ha demostrado su superioridad como marcador de la tasa de filtración glomerular sobre la creatinina sérica (Grubb *et al.*, 1985; Simonsen *et al.*, 1985; Pergande y Jung, 1993; Kyhse-Andersen *et al.*, 1994; Newman *et al.*, 1995; Randers *et al.*, 1998; Herget-Rosenthal *et al.*, 2000). En el perro no son muchos los estudios publicados, aunque la mayoría de los resultados obtenidos también corroboran lo anterior (Almy *et al.*, 2002; Antognine *et al.*, 2005; Pagitz *et al.*, 2007; Wehner *et al.*, 2008). Si bien, en un estudio llevado a cabo en Sudáfrica en perros con babesiosis, la cistatina C no presentó ventajas respecto a la creatinina a la hora de valorar la función renal (de Scally *et al.*, 2006).

El empleo de la cistatina C parece especialmente útil a la hora de discriminar alteraciones leves o moderadas de la función renal (Randers *et al.*, 2001; Gerbes *et al.*, 2002; Christensson *et al.*, 2004; Herget-Rosenthal *et al.*, 2004; Xu *et al.*, 2004; Artunc *et al.*, 2005; Hojs *et al.*, 2006), sin embargo es más imprecisa cuando se valora la filtración glomerular en estadios avanzados de insuficiencia renal (Martin *et al.*, 2006b).

La glucemia en la babesiosis canina suele verse alterada, presentando valores de glucosa por debajo o por encima de su nivel normal. La hipoglucemia está frecuentemente asociada al cuadro clínico de la babesiosis (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998; Keller *et al.*, 2004), sobre todo en los casos complicados, y debe ser rápidamente evaluada y tratada (Keller *et al.*, 2004; Nel *et al.*, 2004; Jacobson y Lobetti, 2005). El hecho de que un paciente padezca hipoglucemia y/o hiperlactemia se correlaciona con un mal pronóstico en varias enfermedades graves de los humanos como es la malaria (White *et al.*, 1983; Molyneux *et al.*, 1989; Agbenyega *et al.*, 2000). En lo referente a la babesiosis canina los hallazgos son muy similares (Button, 1979; Leisewitz *et al.*, 2001; Nel *et al.*, 2004; Jacobson y Lobetti, 2005). No obstante, la fisiopatología de esta hipoglucemia parece ser diferente en la malaria y en la babesiosis. Mientras que en la malaria está asociada con concentraciones anormalmente elevadas de insulina en plasma (White *et al.*, 1983; Agbenyega *et al.*, 2000), en la babesiosis canina la hiperinsulinemia es un hallazgo infrecuente y son otras las causas de hipoglucemia, como es el incremento del consumo de glucosa, el agotamiento de los depósitos de glucógeno hepático o la disfunción hepática con afectación de la gluconeogénesis (Rees y Schoeman, 2008). Por otro lado, la

hiperglucemia también es frecuente en la babesiosis canina (Keller *et al.*, 2004; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007). No obstante, si bien es un hallazgo incluso más frecuente que la hipoglucemia, no es un buen indicador de la gravedad de la enfermedad, ya que según los resultados de Keller *et al.* (2004) más de la mitad de los perros se recuperan sin requerir hospitalización, mientras que en el caso de los perros con hipoglucemia prácticamente todos requirieron ser hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos. En una enfermedad hipermetabólica como es la babesiosis canina, la hiperglucemia no es un hallazgo sorprendente y suele tener como causas un incremento de la movilización de la glucosa y el estrés. También puede aumentar la concentración de glucosa debido a un incremento en la secreción de cortisol (Keller *et al.*, 2004; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007).

Otro aspecto que condiciona en gran medida la evolución de los pacientes con babesiosis es la función endocrina. Así, un estudio realizado con perros infectados por *Babesia canis rossi* ha demostrado que la gravedad de esta enfermedad está significativamente asociada con la elevación de la concentración de hormona adrenocorticotropa (ACTH) endógena, de cortisol sérico (basal y posterior a la estimulación con ACTH) y a la disminución de las concentraciones de tiroxina (T4) y tiroxina libre (Schoeman *et al.*, 2007; Schoeman y Herrtage, 2008). Además, parece existir una respuesta de los ejes hipofisario-adrenal e hipofisario-tiroideo a los niveles de glucosa en sangre, ya que se ha encontrado una relación significativa entre la hipoglucemia y la elevación de la concentración de cortisol basal y posterior a la estimulación con ACTH y, a su vez, con la disminución de T4 y T4 libre (Schoeman y Herrtage, 2007).

En animales con afección grave es posible observar hipopotasemia, pero tal vez sea un hallazgo inespecífico debido a una disminución de la ingestión de potasio, a una excreción renal excesiva o a pérdidas gastrointestinales.

Es importante tener en cuenta que en los casos complicados los cambios bioquímicos pueden ser el reflejo de complicaciones subyacentes, como puede ser, entre otros, la azotemia en casos de fallo renal agudo (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998).

En el análisis urinario es posible observar bilirrubinuria, hemoglobinuria y proteinuria, con presencia de cilindros hialinos y granulosos en el sedimento urinario (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998; Camacho *et al.*, 2004a).

Por lo que respecta al proteinograma, se ha observado una disminución de la albúmina sérica en perros con babesiosis, así como un leve incremento policlonal de la banda de las gammaglobulinas y de las globulinas α_1 y α_2 , mientras que las β -globulinas permanecen sin cambios. Aunque hay que tener en cuenta las importantes diferencias individuales que presentan estos valores en función de la respuesta inmune del paciente frente al parásito (Maegraith, *et al.*, 1957; Tella y Maegraith, 1965; Goicoa *et al.*, 1992). En un estudio más reciente, llevado a cabo en Sudáfrica con perros infectados por

Babesia canis rossi de manera natural, encontraron en aquellos pacientes con babesiosis no complicada grave y no complicada leve, una disminución de las proteínas séricas totales, del ratio albúmina/globulinas y de la albúmina, pero las α -globulinas en lugar de mostrar un incremento estaban por debajo de sus valores normales. Sin embargo, no encontraron ningún cambio o patrón típico en los perros con babesiosis complicada (Lobetti *et al.*, 2000).

Finalmente, indicar que en aquellos casos que evolucionan hacia un síndrome nefrótico, se encontrarán concentraciones elevadas del colesterol y de los triglicéridos séricos como consecuencia del aumento compensador por parte del hígado de sus lipoproteínas transportadoras (LDL, VLDL) (Camacho *et al.*, 2004a).

3.1.9. DIAGNÓSTICO

En la babesiosis el diagnóstico clínico como único medio no resulta en absoluto fiable, pues ninguno de los síntomas es patognomónico, sino que, al contrario, son síntomas generales, compatibles con una gran cantidad de procesos de diferente etiología y localización (Navarrete y Nieto, 1999; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2007; Taylor *et al.*, 2007).

El diagnóstico definitivo de babesiosis se realiza mediante la demostración de la presencia de los protozoos en el interior de los eritrocitos infectados (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998; Navarrete y Nieto, 1999; Boozer y Macintire, 2003; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2007; Taylor *et al.*, 2007; Lappin, 2009). Para la búsqueda de los parásitos en sangre hay que tener en cuenta el escaso período de parasitemia que normalmente acompaña a estas enfermedades (Navarrete y Nieto, 1999). Las extensiones sanguíneas es aconsejable realizarlas de forma inmediata tras la extracción, ya que el almacenamiento de la sangre extraída al paciente, incluso en refrigeración, puede imposibilitar la visualización de los parásitos (Boozer y Macintire, 2003).

Si observamos microorganismos intraeritrocitarios grandes de forma piriforme, por lo general únicos o en pares, se trata de una infección por *Babesia canis*. En ocasiones el diagnóstico puede ser complicado ya que, aunque los animales aparezcan afectados clínicamente, no siempre es posible observar los parásitos en los frotis sanguíneos, pues los niveles de parasitemia suelen ser bajos o intermitentes incluso en infecciones patentes. Debe efectuarse siempre un concienzudo examen de las extensiones de sangre periférica con objetivo de inmersión para intentar detectar los microorganismos (Taboada y Merchant, 1991; Navarrete y Nieto, 1999; Urquhart *et al.*, 2001; Boozer y Macintire, 2003; Taboada y Lobetti, 2006; Taylor *et al.*, 2007; Lappin 2009).

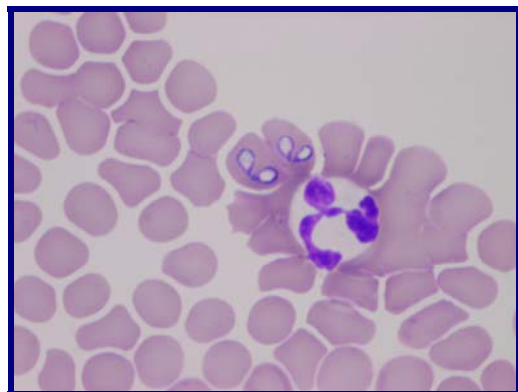


Figura 11: Extensión de sangre periférica donde se observa la forma piriforme característica de los trofozoítos de *Babesia canis* dentro de los eritrocitos

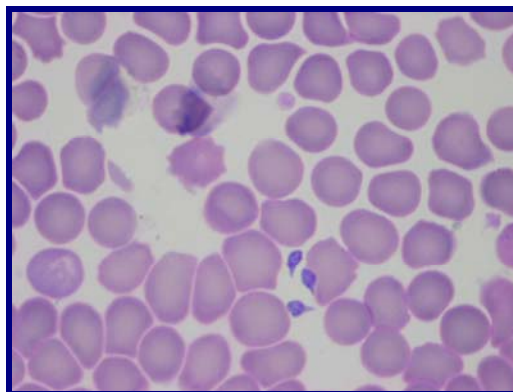


Figura 12: Extensión de sangre periférica donde se observan trofozoítos de *Babesia canis* extraeritrocitarios

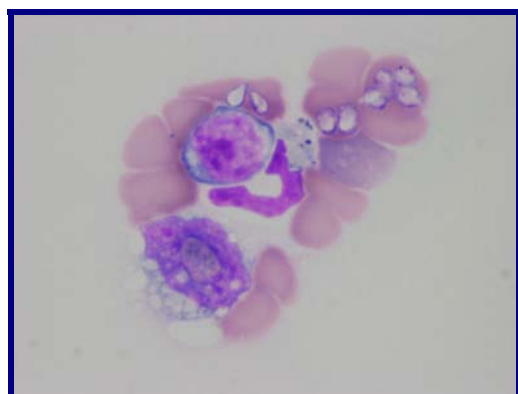


Figura 13: Extensión de sangre periférica donde se observa el fenómeno de eritrofagocitosis

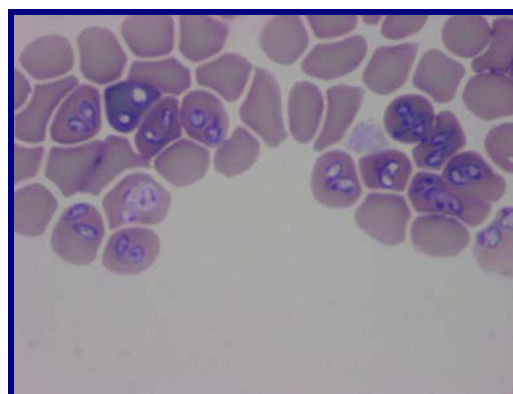


Figura 14: Extensión de sangre periférica donde se observan múltiples eritrocitos parasitados por *Babesia canis*

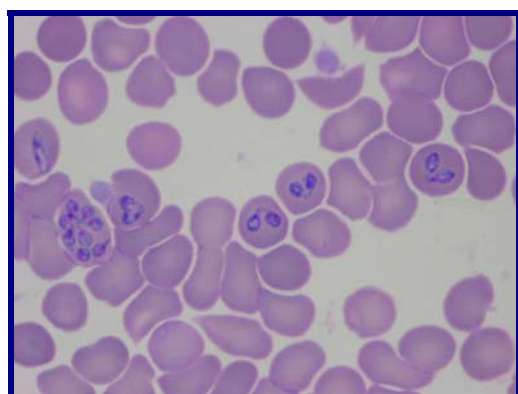


Figura 15: Extensión de sangre periférica donde se puede observar múltiples trofozoítos de *Babesia canis* en un mismo hematíe

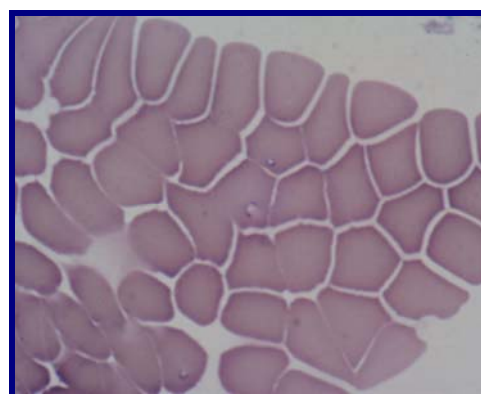


Figura 16: Extensión de sangre periférica donde se observan trofozoítos de *Babesia annae*

Los frotis sanguíneos preparados a partir de lechos capilares periféricos (procedentes de la punta de la oreja o del lecho de las uñas) pueden proporcionar cifras más altas de parásitos según algunos autores (Taboada y Merchant, 1991; Böhm *et al.*, 2006; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin 2009). Asimismo, es más probable que los eritrocitos adyacentes a la capa leucocitaria estén infectados (Taboada y Merchant, 1991; Taboada y Lobetti, 2006). En ocasiones, también es posible observar parásitos fagocitados y fragmentos eritrocitarios en el interior de los neutrófilos (Taboada y Lobetti, 2006). Estos protozoos se observan fácilmente con las tinciones de Romanowsky: Wright, Giemsa o Diff-Quick® (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998; Camacho *et al.*, 2004a). En animales con infección aguda es relativamente fácil detectarlos, sin embargo rara vez son visualizados en portadores asintomáticos, con infección crónica o en la forma subclínica, donde los frotis suelen ser negativos (Navarrete y Nieto, 1999; Taboada y Lobetti, 2006). Habitualmente podemos encontrar los parásitos dentro de los hematíes (intraeritrocitarios), aunque en algunas ocasiones están fuera de ellos (extraeritrocitarios). Ante un frotis negativo pero sugerente de babesiosis, debemos repetirlo a las 24 horas (Navarrete y Nieto, 1999).

El diagnóstico de babesiosis no debe excluirse cuando el resultado de la extensión de sangre periférica es negativo, sino que debe recurrirse a pruebas serológicas. Estas pruebas pueden ser cuestionadas como métodos diagnósticos en casos individuales, pero son de gran utilidad, sobre todo, en estudios epidemiológicos. La serología es segura para detectar parasitemias tanto obvias como ocultas. Si bien se dispone de muchas pruebas serológicas para la babesiosis canina, la de uso más común es la inmunofluorescencia indirecta (IFI), que ha demostrado ser una de las reacciones más específicas en el diagnóstico. Por lo general, títulos de 1/80 o superiores son considerados positivos, entre 1/40 y 1/80 dudosos y por debajo de 1/40 son negativos. Es suficiente un título positivo en una muestra para establecer el diagnóstico (Taboada y Merchant, 1991; Camacho *et al.*, 2004a; Taboada y Lobetti, 2006).

Cuando se realizan determinaciones serológicas de forma indiscriminada puede esperarse un elevado porcentaje de falsos positivos, especialmente con títulos bajos, debido a reacciones cruzadas con procesos diversos, como pueden ser las infecciones por *Toxoplasma gondii* o *Neospora caninum* (Yamane *et al.*, 1993; Taboada y Lobetti, 2006). Además, el hallazgo de serologías positivas específicas pueden indicar solamente un contacto anterior con el parásito, sin relación con el cuadro clínico actual. Esta posibilidad es particularmente importante en zonas endémicas. Así, un estudio llevado a cabo en una zona endémica de Francia demostró que todos los perros portadores de *B. canis* eran seropositivos para el parásito pero, sin embargo, la mitad de los perros seropositivos no eran portadores. Este estudio también puso en evidencia que la serología no es un buen método para la detección de infecciones latentes provocadas por *Babesia* (Wlosniewski *et al.*, 1997). En consecuencia, únicamente una cuidadosa evaluación clínica puede ofrecer una respuesta correcta al diagnóstico.

Además, en infecciones muy recientes o en el caso de animales muy jóvenes, el diagnóstico por IFI puede ser negativo, debiendo repetirse a los 15 días para ver si se ha producido seroconversión. Por otro lado, debemos considerar que la reactividad cruzada entre *Babesia canis* y *Babesia gibsoni* hace necesario identificar el parásito para diferenciar estas dos especies (Breitschwerdt, 1984; Taboada y Merchant, 1991; Boozer y Macintire, 2003; Camacho *et al.*, 2004a; Taboada y Lobetti, 2006).

Otras pruebas como el ensayo inmunoenzimático absorbente (ELISA) y la fijación de complemento (FC) también son válidas para el diagnóstico de la babesiosis pero su utilización es menos común (Boozer y Macintire, 2003; Verdida *et al.*, 2004). Los resultados del ELISA son mucho más sensibles pero menos específicos que los obtenidos con la IFI (Taboada y Lobetti, 2006), por ello su utilidad es mayor para la realización de estudios seroepidemiológicos que para el diagnóstico clínico (Bobada *et al.*, 1989; Reiter y Weiland, 1989; Vercammen *et al.*, 1997).

Actualmente el método más fiable se encuadra en el campo del diagnóstico genético, y consiste en la amplificación de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), contando con cebadores específicos de cada especie (Macintire *et al.*, 2002; Camacho *et al.*, 2004; Taboada y Lobetti, 2006; Solano-Gallego, 2008a, Solano-Gallego, 2008b). Mediante la PCR es posible diagnosticar niveles de parasitemia mil veces inferiores a los detectables por microscopia óptica (Boozer y Macintire, 2003) y además, gracias a ella podemos saber que subespecie (genotipo) de *Babesia* está implicada en cada caso (Földvári *et al.*, 2004; Adaszek y Winiarczyk, 2008; Duarte *et al.*, 2008; Solano-Gallego, 2008a). Hay que destacar también su utilidad para detectar perros infectados por las denominadas “babesias pequeñas” dada su alta sensibilidad y especificidad, de la cual carecen las demás técnicas debido a la existencia de reacciones cruzadas (Fukumoto *et al.*, 2001), tanto con *Babesia canis* (Yamane *et al.*, 1993) como con los eritrocitos normales del perro (Adachi y Makimura, 1992; Yamane *et al.*, 1993; Adachi *et al.*, 1994; Adachi *et al.*, 1995).

3.1.10. TERAPÉUTICA

El tratamiento de la babesiosis canina incluye tanto los fármacos babesicidas como la terapéutica de apoyo (Navarrete y Nieto, 1999; Boozer y Macintire, 2003; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2007; Taylor *et al.*, 2007). Generalmente, los perros muestran una mejoría clínica significativa dentro de las 24 horas posteriores al tratamiento con los fármacos babesicidas. Además, hay que destacar la gran importancia de las medidas de apoyo necesarias para cada paciente, como la administración de fluidos intravenosos a los animales deshidratados o en estados de shock, o las transfusiones de sangre entera o eritrocitos concentrados a los pacientes con anemia grave (Taboada, 1997; Boozer y Macintire, 2003; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2007). En animales con acidemia grave se recomienda la infusión de bicarbonato de sodio, ya que la acidosis es un factor pronóstico

grave si no se trata (Taboada, 1997). No debemos olvidar que, al ser la babesiosis una patología que puede ir acompañada de otros procesos infecciosos o parasitarios, habrá que tratar igualmente las enfermedades concomitantes (Navarrete y Nieto, 1999).

3.1.10.1. TRATAMIENTO BABESICIDA

En el tratamiento de la infección por *Babesia* han sido utilizados numerosos fármacos babesicidas (Taboada y Merchant, 1991; Taboada, 1997; Boozer y Macintire, 2003; Taboada y Lobetti, 2006). Una diferencia significativa entre ambas especies de *Babesia* es su sensibilidad o resistencia a los babesicidas convencionales; así, mientras *Babesia canis* en condiciones normales es bastante sensible, *Babesia gibsoni* por el contrario suele ser resistente (Camacho *et al.*, 2004a). Se sospecha que en el tratamiento de las infecciones provocadas por las denominadas “babesias pequeñas” se pueden originar portadores crónicos, mientras que en el caso de las “babesias grandes”, con una terapia adecuada, la enfermedad llega a curarse por completo (Boozer y Macintire, 2003).

En la actualidad, tratamientos como el tripán azul, derivados del quinuronio y los derivados de la acridina han sido superados ampliamente por la utilización de las diamidinas aromáticas y las carbanilidas, como la pentamidina, el diminazeno o el dipropionato de imidocarb (Taboada y Lobetti, 2006) (tabla 2).

FÁRMACO	DOSIS
Aceturato de diminazeno	3,5-5 mg/kg por vía IM en inyección única.
Isetionato de fenamidina	15-20 mg/kg por vía SC en dos inyecciones con 2 días de intervalo.
Isetionato de pentamidina	16,5 mg/kg por vía IM en dos inyecciones con 2 días de intervalo.
Dipropionato de imidocarb	5-6,6 mg/kg por vía IM en dos inyecciones con 14 días de intervalo.
Tripán azul	10 mg/kg por vía IV en inyección única.
Sulfato de quinuronio	0,25 mg/kg por vía SC en dos inyecciones con 2 días de intervalo.
Clindamicina	12,5 25 mg/kg por VO cada 12 horas durante 7-10 días.
Doxiciclina	10 mg/kg por VO cada 12 horas durante 7-10 días.
Atovacuna	13,3 mg/kg por VO cada 8 horas durante 10 días.
Azitromicina	10 mg/kg por VO cada 24 horas durante 10 días.

Tabla 2: Compuestos babesicidas que se utilizan en el tratamiento de la babesiosis canina (Taboada y Lobetti, 2006)

El aceturato de diminazeno (Berenil®, Gonaseg®) es probablemente el babesicida de uso más común en el mundo. Es eficaz contra los dos tipos de *Babesia* que parasitan al perro, pero más efectivo frente a *B. canis* (Kuttler, 1980; Taboada y Merchant, 1991; Boozer y Macintire, 2003; Taboada y Lobetti, 2006). En el caso de *B. gibsoni*, el aceturato de diminazeno reduce la parasitemia pero no cura la infección completamente (Boozer y Macintire, 2003), por lo que existe el riesgo de la reaparición de la enfermedad y de que los animales puedan convertirse en reservorios del parásito (Conrad *et al.*, 1991). Es un inhibidor de la síntesis de ácido nucleico, ADN y ARN, y se muestra eficaz frente a la infección por *B. canis* a la dosis de 3,5-5 mg/kg, en inyección única, por vía intramuscular (IM) profunda. En el caso de animales infectados por *B. gibsoni* se debe repetir la dosis a las 24 horas, aplicando una dosis total de 7 mg/kg o superior, lo que supone un incremento del riesgo potencial de neurotoxicidad. Cabe destacar que los perros son más susceptibles a los efectos tóxicos de esta droga que el resto de especies domésticas (Taboada y Lobetti, 2006). Los efectos secundarios del aceturato de diminazeno son: dolor e inflamación en el punto de la inyección, irritación gastrointestinal, hipotensión y manifestaciones neurológicas como ataxia y paresias (Camacho *et al.*, 2004a; Taboada y Lobetti, 2006). En caso de intoxicación puede aparecer depresión, estupor, vocalizaciones, ataxia, opistótonos, rigidez con los miembros extendidos, nistagmo, ataques e incluso la muerte (Lobetti, 1998). Aunque se sospecha que pueden existir resistencias frente al diminazeno todavía no han sido demostradas (Lobetti, 1998). Debido a su toxicidad sobre el riñón, hígado y cerebro este fármaco no ha sido aprobada por la FDA (Food and Drug Administration) en Estados Unidos para su uso clínico (Farwell *et al.*, 1982).

Con respecto al isetionato de fenamidina (Lomidine®, Phenamidine®) está disponible en muchos países y su eficacia es alta para ambos tipos de *Babesia* a dosis de 15-20 mg/kg administrada por vía subcutánea (SC) en dos días consecutivos (Taboada, 1997; Boozer y Macintire, 2003; Taboada y Lobetti, 2006).

El isetionato de pentamidina (Pentam 300®), que se administra a la dosis de 16,5 mg/kg, vía IM, 2 veces con 24 horas de intervalo, se une al material genético del protozoo (ADN y ARN) e impide su división y desarrollo, causando la muerte del parásito. Son frecuentes los efectos secundarios, como dolor en el punto de la inyección, hipotensión, taquicardia y vómitos (Taboada y Lobetti, 2006). Este fármaco ha mostrado una gran eficacia frente a *B. canis* y *B. gibsoni*, pero no elimina totalmente las infecciones causadas por ésta última (Kuttler, 1988b; Boozer y Macintire, 2003).

El tratamiento de elección en los casos de *B. canis* es el dipropionato de imidocarb (Imizol®), de la familia de los carbanilidos, que actúa directamente en el núcleo y el citoplasma del parásito. Muestra una eficacia excelente con dosis de 4-6 mg/kg por vía IM o SC, administrando dos inyecciones con un intervalo de 14 días. Algunos estudios clínicos aconsejan, igual que para el resto de los piroplasmicidas, separar las dos dosis 48 horas (Ogunkoya *et al.*, 1981; Uilenberg *et al.*, 1981;

Adeyanju y Aliu, 1982; Vial y Gorenflot, 2006). El imidocarb elimina la infección por *B. canis* y la posible reinfección por nuevas garrapatas parasitadas durante un período de hasta cuatro semanas después de su administración; sin embargo, su efectividad frente a *B. gibsoni* es menor (Taboada y Lobetti, 2006). Además, también ha sido demostrada su eficacia al administrar una dosis única de 7,5 mg/kg, o bien, una dosis de 6 mg/kg el día siguiente de haber aplicado una dosis de 3,5 mg/kg de aceturato de diminazeno (Penzhorn *et al.*, 1995; Taboada y Lobetti, 2006).

Según un estudio reciente, la administración de imidocarb los días 15 y 27 posteriores a la infección experimental con *B. canis* elimina la infección, pero inhibe la respuesta inmune protectora asociada a la recuperación gradual de los pacientes, haciendo a éstos más susceptibles a la reinfección que los perros del grupo control que no habían sido tratados (Brandao *et al.*, 2003).

Por otra parte, se ha demostrado que el imidocarb es eficaz contra *Ehrlichia canis* y en consecuencia es el fármaco de elección en infecciones mixtas (Adeyanju y Aliu, 1982; Taboada, 1997; Sainz *et al.*, 2000; Suárez *et al.*, 2000).

En el caso de las babesiosis agudas la respuesta al tratamiento con imidocarb suele ser rápida, con un incremento de la producción de eritrocitos en un intervalo de 12-24 horas (Vial y Gorenflot, 2006). Entre los posibles efectos secundarios se incluyen el dolor en el punto de inyección y los signos parasimpaticomiméticos. Dentro de los 10 minutos posteriores a la inyección puede aparecer salivación excesiva, depresión, lagrimeo, secreción nasal serosa, temblores musculares, taquicardia, disnea o diarrea. También han sido descritos temblores, depresión, edema periorbital y fiebre a las 10-12 horas de la administración del imidocarb (Lobetti, 1998). Estos signos, si aparecen, suelen ser leves y dosis-dependientes y para evitarlos puede premedicarse al paciente con atropina (Boozer y Macintire, 2003).

Es importante señalar que el dipropionato de imidocarb se debe administrar con prudencia en aquellos pacientes que presenten algún tipo de nefropatía debido a que es un fármaco con un elevado poder nefrotóxico. Así, en estudios experimentales llevados a cabo con distintas especies se ha visto que la aplicación del fármaco puede producir túbulonefrosis aguda, sin embargo sus efectos en el perro no están todavía bien descritos (Máthé *et al.*, 2007). La intoxicación con imidocarb puede llegar a causar una necrosis grave a nivel de los túbulos renales y en el hígado, con signos clínicos tales como depresión, taquicardia, diarrea, lagrimeo, temblores y arritmias cardíacas (Lobetti, 1998). Así, una dosis 10 veces superior a la recomendada, provocó la muerte de un perro como resultado de la necrosis hepática (Kock y Kelly, 1991).

El tripán azul es utilizado de forma habitual para tratar perros con shock grave producido por *B. canis rossi*. Este fármaco actúa bloqueando la entrada del parásito en los glóbulos rojos. Normalmente no es posible eliminar la infección con este tratamiento, pero sí reducir los signos

clínicos y la parasitemia, aunque ésta última puede volver a aparecer dentro de las siguientes dos semanas (Boozer y Macintire, 2003; Lobetti, 1998). Por ello, está recomendada la administración de diminaceno o imidocarb tras el tripán azul para intentar eliminar la infección. Debido a que sus efectos secundarios son mínimos y a que su índice terapéutico es muy superior al resto de los babesicidas, es utilizado con frecuencia como tratamiento inicial en los casos más graves, así como también en las recaídas tras el tratamiento con imidocarb o diminaceno. El tripán azul produce irritación tisular por lo que debe administrarse de forma estricta como solución intravenosa (IV) al 1% (10 mg/kg). Tras su administración las mucosas, la orina y el plasma aparecen de un color azulado lo que puede dificultar la monitorización del paciente. Si es necesario puede repetirse el tratamiento (Lobetti, 1998; Taboada y Lobetti, 2006).

El sulfato de quinuronio ha sido efectivo en el tratamiento de perros infectados por *B. canis*. Estos animales mostraron una mejoría clínica en las 24-48 horas posteriores al tratamiento (Kontos y Koutinas, 1997; Taboada y Lobetti, 2006).

Se han utilizado otros fármacos como la oxitetraciclina, con cierta eficacia frente a especies de *Babesia* que parasitan al ganado bovino pero no frente a las que parasitan al perro (Vercammen *et al.*, 1995; Taboada, 1997) y el metronidazol, con un éxito limitado en la terapia de infecciones por *B. gibsoni* (50 mg/kg/día por vía oral (VO), durante 7 días) (Taboada, 1997). Diversos autores están realizando con cierto éxito el tratamiento de la babesiosis canina con clindamicina, a la dosis de 25 mg/kg por VO cada 12 horas, durante 14 días, mostrándose eficaz frente a *B. gibsoni*, ya que reduce gradualmente los niveles de parasitemia e induce cambios morfológicos que conllevan la degeneración de los parásitos, aunque no elimina completamente la infección (Wulansari *et al.*, 2003); y con doxiciclina, 6 mg/kg por VO cada 12 horas, durante 10 días (Camacho *et al.*, 2004a). También se ha aplicado el tratamiento conjunto de imidocarb (IM a la dosis descrita anteriormente) con doxiciclina, 10 mg/kg por VO, una vez al día durante 15 días, que proporciona al paciente una mejor evolución clínica que cuando es tratado únicamente con imidocarb (Goicoa *et al.*, 2002). El tratamiento con atovaquona y azitromicina conjuntamente ha demostrado que disminuye los niveles de parasitemia en infecciones provocadas por *B. gibsoni* (Birkenheuer *et al.*, 2003d; Birkenheuer *et al.*, 2004b; Taboada y Lobetti, 2006; Jefferies *et al.*, 2007b), pero no elimina la infección completamente y pueden desarrollarse resistencias frente a esta terapia (Jefferies *et al.*, 2007b). Otro inconveniente de la atovaquona es que suele ser difícil de obtener en determinados países y su precio puede ser muy superior al del resto de los tratamientos (Taboada y Lobetti, 2006).

Se ha descubierto recientemente que diferentes tipos de heparina tienen un efecto inhibitor sobre el crecimiento de determinadas cepas de *Babesia*, ya que impiden tanto la entrada de los trofozoítos del parásito en los glóbulos rojos, como la salida de los mismos si éstos ya están infectados. En concreto la heparina inhibe significativamente la multiplicación de *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *B.*

equi, *B. caballi* y *B. microti*, pero aun no está demostrada su efectividad sobre *B. canis* (Bork *et al.*, 2004). Así mismo, determinados agentes antifúngicos (clotrimazol y ketoconazol), herbicidas (clodinafop-propargyl) y antimicrobianos (triclosan), cuya eficacia como inhibidores del crecimiento de *Plasmodium sp.* y *Toxoplasma sp.* ya ha sido demostrada, también parecen ser efectivos para el tratamiento de la babesiosis equina y bovina (Bork *et al.*, 2003a; Bork *et al.*, 2003b), pero su eficacia no ha sido probada en perros.

Por último, en la búsqueda de tratamientos alternativos para los pacientes con babesiosis donde está contraindicado el uso de babesicidas como el dipropionato de imidocarb o el aceturato de diminazeno, se ha descrito el tratamiento homeopático con *Crotalus horridus* 200C, que ha demostrado ser efectivo en el caso de babesiosis no complicadas (Chaudhuri y Varshney, 2007).

3.1.10.2. TRATAMIENTO SINTOMÁTICO

El tratamiento sintomático puede ser necesario en la babesiosis, sobre todo, en los casos complicados, y cuando determinados síntomas son muy evidentes, principalmente la anemia (Moore, 1979; Jacobson y Swan, 1995). Este tratamiento debe de estar siempre basado en la evolución del paciente y en su monitorización continua (Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2009). Así, en este apartado podemos incluir:

- Realizar transfusiones de sangre para corregir la anemia (Moore, 1979; Jacobson y Lewis, 1994; Lobetti, 1998; Boozer y Macintire, 2003; Taboada y Lobetti, 2006), o bien, transfusiones con hemoglobina sintética (Oxiglobin®) para revertir los estados de hipoxia (Suárez, 2009; Zambelli y Leisewitz, 2009). No obstante, la decisión de realizar o no una transfusión sanguínea, debe de estar basada no sólo en los resultados de los análisis hematológicos, sino también en función de los signos clínicos y la historia del perro. Los signos clínicos que pueden indicar la necesidad de realizar una transfusión son la taquicardia, la taquipnea, el pulso hipercinético, la debilidad o el colapso. La rapidez de la evolución y el grado de regeneración de los glóbulos rojos también se deben tener en consideración. Aunque el indicador de anemia más utilizado suele ser siempre el hematocrito, el recuento total de glóbulos rojos y la hemoglobina también pueden ser utilizados. Generalmente, se empieza a considerar la necesidad de realizar una transfusión con hematocritos inferiores al 15% y está siempre indicada cuando el hematocrito es de un 10% o inferior. El grado de parasitemia no es un factor importante a la hora de tomar la decisión porque habitualmente no tiene una relación importante con el grado de anemia. En los casos de babesiosis, la transfusión de concentrado de glóbulos rojos suele ser la decisión más acertada, ya que, la transfusión de plasma o sangre entera es innecesaria en la mayoría de los casos y puede poner en riesgo la

vida del paciente por sobrecarga de volumen (Taboada y Lobetti, 2006). Una alternativa a la transfusión de concentrado de glóbulos rojos es la transfusión con hemoglobina sintética (Oxiglobin®), la cual ha mostrado en un estudio reciente una eficacia similar con respecto a la gasometría sanguínea, al equilibrio ácido-base y a la presión arterial en perros con anemia debida a babesiosis (Zambelli y Leisewitz, 2009). Si el animal requiere rehidratación, la fluidoterapia con cristaloides es la más recomendable. Si bien, por otra parte, hay que tener en cuenta que la transfusión de sangre entera fresca mejora el grado de oxigenación y el balance ácido-base en los pacientes infectados por *Babesia canis* (Taboada y Lobetti, 2006).

● Administrar heparina y glucocorticoides para evitar el desarrollo de un CID y el shock (Moore, 1979; Taboada, 1997). No existe unanimidad de criterio en cuanto a la indicación de la administración o no de glucocorticoides. En muchas de las manifestaciones clínicas de la babesiosis canina participa el sistema inmunitario, en especial en la anemia hemolítica. En consecuencia, en esta forma puede ser beneficioso el tratamiento con dosis inmunosupresoras de estos fármacos (Taboada, 1997; Taboada y Lobetti, 2006). Así, en un estudio realizado en Sudáfrica, el 20% de los perros infectados por *Babesia canis rossi* tenían anemia hemolítica y no respondían a un tratamiento realizado únicamente con fármacos babesicidas (Jacobson y Clark, 1994). No obstante, la corticoterapia puede predisponer a otras infecciones e incrementa la posibilidad de inducir recaídas por *Babesia* (Masuda *et al.*, 1983). En el control de la parasitemia es importante el sistema monocitofagocitario (monocitos y macrófagos), y con frecuencia la reducción de su función origina una parasitemia más grave, poco después del inicio de la corticoterapia. Es probable que estén indicados los glucocorticoides en perros con anemia hemolítica aguda u otros signos atribuibles a mecanismos inmunitarios, sin embargo, quizá no deba utilizarse a largo plazo y en la mayoría de los perros se debería iniciar la disminución de la dosis al cabo de dos o tres semanas. Cuando estos fármacos se administran es necesario vigilar muy de cerca al perro en busca de infecciones secundarias y efectos adversos (Taboada, 1997; Taboada y Lobetti, 2006).

● Vigilar el desarrollo de lesiones renales, rehidratar y estimular la diuresis para evitar la presencia de edemas. El empleo de furosemida permite aumentar la filtración renal y disminuir los edemas, sobre todo a nivel del sistema nervioso central y pulmones (Camacho *et al.*, 2004a). Por otra parte, es necesario tener en cuenta los problemas que entraña la fluidoterapia en el caso de los pacientes con babesiosis complicada, particularmente en aquellos con oliguria, babesiosis cerebral y edema pulmonar, en los cuales debemos considerar el empleo de fluidos hipertónicos (Jacobson y Swan, 1995).

● Administrar glucosa, protectores hepáticos (vitaminas del complejo B y ácido fólico) y antiácidos gastrointestinales (Camacho *et al.*, 2004a).

- Combatir la acidosis con bicarbonato sódico u otros alcalinizantes alternativos aunque su beneficio es discutible, así como el empleo de oxigenoterapia en la hipoxia anémica (Jacobson y Swan, 1995).
- Por otra parte, también es necesario un manejo correcto y el empleo de los fármacos específicos para cada una de las distintas complicaciones con las que puede cursar la babesiosis (Lobetti, 1998).

3.1.11. PREVENCIÓN

El mejor método de prevención en las áreas endémicas de babesiosis es el control agresivo de las garrapatas vectoras (Smith y Kakoma, 1989; Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998; Boozer y Macintire, 2003; Camacho *et al.*, 2004a; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2007). Mantener al perro libre de garrapatas es la primera medida a tomar, ya que la garrapata requiere de un mínimo de dos a tres días de alimentación para que se transmita la babesiosis (Martinod *et al.*, 1985; Taboada y Lobetti, 2006). Por tanto, en zonas de alta incidencia de babesiosis, es recomendable el empleo de collares o sprays acaricidas, así como una exploración periódica exhaustiva de la piel y el pelo de los animales expuestos a las garrapatas (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998; Camacho *et al.*, 2004a). Si bien los collares impregnados de amitraz no son muy eficaces para la prevención de las pulgas, si son más o menos útiles para controlar las garrapatas cuando se utilizan conjuntamente con la inspección, baños y atención ambiental (Taboada, 1997; Taboada y Lobetti, 2006), y su uso reduce significativamente el riesgo de infección por *Babesia* (Last *et al.*, 2007).

En perros infectados con anterioridad se debe evitar la utilización de fármacos inmunodepresores y la esplenectomía (Lappin, 2007). En áreas endémicas también es importante iniciar programas de baños y medidas de control ambiental. Antes de introducir nuevos animales en una colonia, deben someterse a pruebas serológicas, bañarse y ponerse en cuarentena (Taboada, 1997; Taboada y Lobetti, 2006). Es importante que en criaderos, en los cuales la babesiosis ha provocado la muerte de algún cachorro, estas medidas sean todavía más agresivas, incluyendo el uso de sprays en el ambiente y el tratamiento de los animales, porque se ha demostrado que esta enfermedad se puede transmitir de forma vertical. En estos lugares deben realizarse pruebas serológicas para eliminar del criadero la totalidad de los animales infectados (Boozer y Macintire, 2003).

3.1.11.1. QUIMIOPROFILAXIS

Un tratamiento con dipropionato de imidocarb (una dosis única de 4-6 mg/kg, inyectada IM o SC), mantiene al animal libre de parásitos durante cuatro semanas, por lo que una inyección mensual tendría efectos profilácticos (Brandao *et al.*, 2003), aunque otros autores han sugerido que esta

protección es de tan sólo dos semanas (Vercammen *et al.*, 1996a). Sin embargo, debemos tener en cuenta que su administración trae consigo la disminución del título de anticuerpos protectores frente a *Babesia*, lo que hará a los perros más susceptibles a la reinfección en un corto período de tiempo (Brandao *et al.*, 2003), además de sus efectos secundarios y elevado poder neurotóxico y hepatotóxico (Lobetti, 1998; Máthé *et al.*, 2007).

La doxiciclina también ejerce un buen efecto profiláctico, dosificada a 5 mg/kg/día, por VO, no previene completamente la enfermedad pero disminuye los síntomas y acelera la recuperación. Vercammen *et al.* (1996b) afirman que con dosis de 20 mg/kg/día sí se obtiene una protección clínica completa, aunque los perros pueden volver a infectarse una vez abandonado el tratamiento.

La adopción de medidas profilácticas tan agresivas como la administración de componentes babesicidas, puede estar justificada en los animales esplenectomizados o inmunodeprimidos que viven en áreas endémicas (Camacho *et al.*, 2004a) y/o en aquellos animales en los que por diversas circunstancias está contraindicada la vacuna (Bourdoiseau, 2006).

3.1.11.2. VACUNACIÓN

Desde hace décadas se sabe que los antígenos parasitarios solubles (SPA) de varias especies de *Babesia* pueden ser utilizados como vacuna frente a las manifestaciones clínicas de la babesiosis. Estos SPA pueden ser obtenidos a partir del plasma de los animales infectados, o bien, a través del cultivo *in vitro* de estos parásitos (Moreau *et al.*, 1989; Schetters, 2005).

La vacuna que existe actualmente en el mercado europeo (Pirodog®) esta elaborada con antígenos solubles inactivados a partir del sobrenadante del cultivo *in vitro* de *B. canis canis*, utilizando la saponina como adyuvante (Moreau *et al.*, 1989). Con ella se consigue proteger a los perros contra infecciones homólogas pero no inducen protección frente a las heterólogas (Schetters *et al.*, 2001). Esta vacuna no previene la infección pero parece bloquear el inicio de muchos de los procesos patológicos que puede causar la babesiosis. Presenta una eficacia del 70-100% frente a *B. canis canis* (Moreau *et al.*, 1988) y en aquellos animales que presentan síntomas reduce la intensidad del cuadro clínico, limitando la caída del valor del hematocrito y el desarrollo de esplenomegalia (Schetters *et al.*, 1995; Schetters *et al.*, 1997b). Los beneficios de la vacuna son evidentes en perros inmunosuprimidos, reconocidos como un grupo de alto riesgo, sin embargo los resultados en otro tipo de pacientes han sido menos alentadores. Este hecho, unido al elevado coste de la vacuna, ha limitado su uso. Esta vacuna ha sido de las primeras con carácter antiprotozoario y, en consecuencia, ha abierto una nueva era en el control de la babesiosis y de otras enfermedades producidas por protozoos (Moreau *et al.*, 1989).

La forma habitual de administración de Pirodog® es de dos inyecciones subcutáneas con un intervalo de 3-4 semanas, pudiendo aplicarse la primera inyección a partir de los cinco meses de edad (Bourdeau y Guelfi, 1995). El comienzo de la protección frente a la babesiosis clínica aparece a partir de la tercera semana post-vacunación, y permanece efectiva durante un período de, al menos, 6 meses. Una revacunación será suficiente para prolongar la inmunidad por otros 6 meses (Schetters *et al.*, 2006). Pirodog® no se puede administrar al mismo tiempo que otras vacunas, con excepción de la de la rabia y la leptospirosis (Bourdoiseau, 2006).

Estudios recientes han demostrado que mediante la utilización de una vacuna bivalente que contiene SPA de las cepas *B. canis canis* y *B. canis rossi* obtenidos a partir de cultivos *in vitro*, es posible conseguir protección frente a infecciones heterólogas de *B. canis canis* (Schetters *et al.*, 2001) y también frente a las infecciones heterólogas de *B. canis rossi* (Schetters *et al.*, 2007). Esta inmunidad se refleja en una reducción de los signos clínicos, que llegan a resolverse espontáneamente, y una reducción de la parasitemia y de los SPA en sangre (Schetters *et al.*, 2006; Schetters *et al.*, 2007).

No existen vacunas disponibles para ninguna forma de *B. gibsoni*. Además, las vacunas utilizadas frente a *Babesia canis* en Europa no confieren protección cruzada con las otras formas de “babesias pequeñas” (Camacho *et al.*, 2004a).

3.1.11.3. CONTROL DE LAS TRANSFUSIONES SANGUÍNEAS

Es importante destacar que la babesiosis puede transmitirse por transfusiones sanguíneas, lo que determina que sea de especial importancia controlar a los donantes de sangre (Breitschwerdt, 1984; Freeman *et al.*, 1994; Taboada, 1997; Lobetti, 1998; McQuiston *et al.*, 2000; Herwaldt *et al.*, 2002; Stegeman *et al.*, 2003; Taboada y Lobetti, 2006). Todos los posibles donantes de sangre caninos deben testarse serológicamente frente a babesiosis para así identificar a los animales positivos y eliminarlos del programa (Breitschwerdt, 1984; Taboada, 1997; Lobetti, 1998; Taboada y Lobetti, 2006). Como muchas de las infecciones son asintomáticas y la parasitemia puede persistir a lo largo de muchos meses, un donante infectado tendrá la capacidad de transmitir *Babesia spp.* durante períodos prolongados de tiempo (Leiby, 2006). Además, el parásito está adaptado para sobrevivir bajo las condiciones habituales de almacenamiento sanguíneo, permaneciendo viable hasta 35 días (Mintz *et al.*, 1991; Eberhard *et al.*, 1995). La falta de un consenso para prevenir la transmisión de *Babesia* prolonga la problemática y no será fácil de resolver mientras no existan pruebas de diagnóstico autorizadas, con una alta sensibilidad y especificidad, que permitan detectar a los donantes infectados, especialmente en las zonas endémicas de babesiosis (McQuiston *et al.*, 2000; Herwaldt *et al.*, 2002; Leiby, 2006). Esta prueba podría ser la PCR, ya que es muy sensible a la hora de detectar portadores de babesiosis. Cuando la PCR no está disponible, la esplenectomía de los donantes es una posibilidad a

tener en cuenta para aumentar la probabilidad de encontrar los hemoparásitos en animales asintomáticos. Se deben examinar los frotis sanguíneos de estos animales todos los días durante las dos semanas siguientes a la esplenectomía y luego periódicamente para descartar una infección por *Babesia* (Taboada y Lobetti, 2006).

3.2. PRESIÓN ARTERIAL

3.2.1. DEFINICIÓN

La presión hidráulica dentro del árbol arterial es el resultado dinámico de las fuerzas combinadas del ventrículo izquierdo del corazón y la resistencia vascular periférica a nivel de las arteriolas (Hansen, 1997). La presión arterial (PA) sistémica es el producto del gasto cardiaco y la resistencia periférica total. El gasto cardiaco se puede fraccionar aún más como el producto de la frecuencia cardiaca y el volumen sistólico, lo que da lugar a la siguiente relación (Brown, 2007):

$$PA = (\text{Frecuencia cardiaca} \times \text{Volumen sistólico}) \times \text{Resistencia vascular periférica total}$$

La forma de onda de la presión arterial y los valores de las presiones sistólica, diastólica y media varían según el lugar de medición en el árbol arterial. La vigilancia de la presión arterial constituye un intento para obtener una muestra de estas presiones de modo que proporcione una aproximación clínicamente útil de los fenómenos hemodinámicos reales. Debido a que es posible que se activen muchos mecanismos compensadores para controlar la presión arterial, la presencia de una presión arterial normal no asegura una función cardiovascular adecuada (Hansen, 1997).

3.2.2. MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL EN EL PERRO

La evaluación sistemática de la presión arterial en pacientes de la clínica veterinaria es un avance relativamente reciente y el número de publicaciones sobre lo que se considera normal y anormal en perros y gatos domésticos aumenta cada día (Stepien, 2007). Los primeros estudios relacionados con la medición de la presión arterial en perros se remontan al año 1733 y fueron realizados por Hales. En el año 1934, Goldblatt y colaboradores convirtieron al perro en el animal modelo para el estudio de la hipertensión (Bodey y Michell, 1996). En los últimos años también ha cobrado importancia el perro en la medicina comparada gracias a las semejanzas existentes, en ciertos aspectos, entre la medicina canina y la humana (Michell, 2000).

La medición de la presión arterial sistémica debería ser siempre un componente central de la vigilancia hemodinámica de perros y gatos (Hansen, 1997; Reezigt, 2007; Ware, 2009). La presión arterial combinada con la presión venosa central (PVC), un examen físico cuidadoso y un seguimiento electrocardiográfico (ECG) continuo, refleja, de manera rápida y fiable, la integridad del sistema

cardiovascular en la mayor parte de los animales (Hansen, 1997). De hecho, es un parámetro que, por su importancia, se mide de forma rutinaria en el hombre desde hace muchos años (Weiser *et al.*, 1977).

Desde siempre se le ha prestado poca atención a la presión sanguínea en medicina veterinaria, debido, en parte, a la falta de un método simple y fácil de aplicar en una consulta. Esto se ha subsanado recientemente con la aparición de los detectores Doppler de flujo ultrasónico que nos proporcionan medidas fiables y relativamente simples de la presión arterial de forma no invasiva (Weiser *et al.*, 1977; Chalifoux *et al.*, 1985).

En la clínica de pequeños animales, la evaluación de la presión sanguínea requiere una valoración cuidadosa de todos los parámetros clínicos, incluyendo la historia, los hallazgos del examen físico, los resultados de todas las pruebas diagnósticas realizadas y la valoración de los tratamientos que esté recibiendo el animal (Stepien, 2000). De esta manera, la determinación de la presión arterial se convierte en uno de los métodos más efectivos y prácticos para monitorizar el estado hemodinámico de los animales (Grosenbaugh, 1998).

3.2.3. TÉCNICAS DE MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

En la actualidad disponemos de diferentes métodos para valorar la presión arterial en la clínica de perros y gatos, que incluyen técnicas invasivas, mediante la colocación de catéteres arteriales, y técnicas no invasivas, mediante el empleo de aparatos oscilométricos o detectores Doppler de flujo ultrasónico. Cada técnica tiene sus ventajas y sus inconvenientes en función del paciente (Chalifoux *et al.*, 1985; Sawyer *et al.*, 1991; Bodey *et al.*, 1996; Hansen, 1997; Stepien, 2000).

Todos estos métodos han sido investigados, tanto en perros como en gatos, con la intención de establecer unos valores de referencia en animales sanos. Mientras que algunos estudios muestran una fuerte correlación entre los datos obtenidos mediante las distintas técnicas, otros indican que la variabilidad propia de cada paciente y de la aplicación clínica de cada técnica, así como pequeños cambios en los protocolos de medida, hacen que sea prácticamente imposible establecer una presión sanguínea de referencia mediante el empleo de técnicas no invasivas. Sin embargo, como cada uno de los métodos nos proporciona resultados relativamente repetitivos, podremos saber si las medidas son normales o anormales comparándolas con las de pacientes sanos obtenidas mediante el uso de una técnica idéntica (Stepien, 2000; Fuentes, 2004).

Es importante destacar que no debe recurrirse ni a la sedación química ni a la anestesia del paciente para realizar las mediciones, ya que los valores de la presión arterial pueden verse afectados, apareciendo una disminución artificial de los mismos (Coulter *et al.*, 1981; Kittleson y Olivier, 1983; Stepien *et al.*, 1995; Brum y Morgan, 1999; Stepien y Rapoport, 1999).

3.2.3.1. VIGILANCIA NO INVASIVA (INDIRECTA) DE LA PRESIÓN ARTERIAL

La presión sistólica directa es la medida ideal a realizar en todos aquellos perros en los que se sospeche que puedan padecer cualquier anomalía cardiovascular. Esto puede ser técnicamente muy difícil en muchos pacientes y quizás, doloroso y estresante para el animal, por lo que se suele recurrir, en la mayoría de los casos, a las técnicas indirectas (Kittleson y Olivier, 1983; Stepien y Rapoport, 1999; Sparkes *et al.*, 1999; Devey, 2003; Brown *et al.*, 2007).

Los métodos indirectos suelen ser adecuados en pacientes normales e hipertensos y su uso rutinario puede ser de utilidad como método preventivo en medicina veterinaria. Sin embargo, es probable que estas técnicas fracasen en animales muy graves, en especial si son hipotensos o taquicárdicos. En consecuencia, los pacientes que necesitan un mayor control de la presión arterial son los que menos probabilidades tienen de beneficiarse con los métodos indirectos (Hansen, 1997; Ware, 2009).

La medición de la presión arterial mediante métodos indirectos se basa en la detección del flujo sanguíneo en una arteria distal a un manguito ocluidor. Los métodos de detección incluyen auscultación, palpación, detección ultrasónica del flujo y medición de las oscilaciones de la presión del manguito (Hansen, 1997).

Los manguitos circundantes proporcionan un medio para ocluir por completo la arteria de un miembro o de la cola. La liberación controlada y vigilada de la presión del manguito proporciona un medio para estimar la presión arterial, basado en la detección del retorno del flujo sanguíneo. Es posible medir la presión en el manguito con un manómetro aneroide o de mercurio y transductores de presión automatizados (Hansen, 1997; Brum y Morgan, 1999; Devey, 2003).

El tamaño del manguito es una variable importante para obtener las mediciones indirectas de la presión arterial. Parte de la presión aplicada por el manguito se “pierde” en la compresión tisular y por tanto, un tamaño inadecuado o una mala colocación del mismo puede dar lugar a resultados erróneos. En consecuencia, las mediciones de la presión con manguitos muy estrechos serán falsamente elevadas, mientras que los muy anchos proporcionan valores de presión arterial disminuidos, aunque este artefacto es menos notorio que el que se observa con manguitos estrechos. La anchura óptima es aproximadamente equivalente al 40% de la circunferencia de la extremidad y debe ser lo bastante largo como para circundar por lo menos el 60% del miembro. El manguito debe colocarse no muy apretado y bien centrado sobre la arteria de mayor calibre en el nivel escogido (Hansen, 1997; Brum y Morgan, 1999).

En el hombre se utilizan de manera universal los métodos manuales para la medición rutinaria de la presión arterial. A pesar de la existencia de distintas pruebas que indican que algunas de estas

técnicas pueden ser útiles en perros normotensos e hipertensos, no han sido usadas sistemáticamente para medir la presión arterial de los animales de compañía por las dificultades técnicas relacionadas con la anatomía de los miembros tanto del perro como del gato. Por ello, los únicos métodos de medición indirecta empleados comúnmente en medicina veterinaria son las determinaciones ultrasónicas y oscilométricas automatizadas (Hansen, 1997).

Por otro lado, mientras que en un estudio realizado por Remillard *et al.* en 1991 no encontraron diferencias significativas entre las mediciones de la presión arterial obtenidas mediante técnicas no invasivas en el propio hogar de los perros y los valores registrados en la clínica, otros autores consideran que estos valores sí difieren significativamente (Vincent *et al.*, 1993; Kallet *et al.*, 1997). En algunas personas, la presión arterial sistólica y diastólica aumentan cuando éstas entran en clínicas u hospitales, o en los minutos iniciales del examen médico, volviendo generalmente a sus valores iniciales en un corto período de tiempo. Debido a este motivo, en algunos pacientes las medidas registradas pueden estar falsamente elevadas lo que puede llevar a diagnósticos erróneos (Mancia *et al.*, 1983; White, 1986). Esta misma situación ocurre con los perros hospitalizados, en los cuales los valores de la presión sistólica son más elevados que los de los perros que visitan la clínica pero que no están hospitalizados (Coulter y Keith, 1984). Esta diversidad en los valores de la presión arterial puede ser atribuida al estrés (Coulter y Keith, 1984; Vincent *et al.*, 1993; Vincent y Michell, 1996). Con el fin de minimizar los efectos de la estimulación adrenérgica se han llevado a cabo estudios para establecer un rango de referencia para la presión arterial mediante el uso de diversos métodos, como la aclimatación de los animales a la situación y a la posición durante un período de al menos 30 minutos previos a la medida (Weiser *et al.*, 1977; Hassler *et al.*, 1979; Pettersen *et al.*, 1988; Vincent *et al.*, 1993; Bodey y Michell, 1996; Bodey *et al.*, 1996; Kallet *et al.*, 1997).

3.2.3.1.1. MÉTODO OSCILOMÉTRICO

La oscilometría indirecta (figura 17) es un método fácil y práctico para valorar la presión arterial y para detectar una posible hipertensión en medicina veterinaria (Kittleson y Olivier, 1983; Coulter y Keith, 1984; Pettersen *et al.*, 1988; Vincent *et al.*, 1993; Bodey y Michell, 1996; Kallet *et al.*, 1997). Su precisión ha sido confirmada en perros mediante la comparación de los valores obtenidos con este método respecto a los hallados mediante técnicas directas por punción arterial, por lo que está considerado como una técnica apropiada para evaluaciones de rutina (Geddes *et al.*, 1980; Pettersen *et al.*, 1988; Sawyer *et al.*, 1991; Bodey *et al.*, 1994; Kallet *et al.*, 1997). Si bien, la experiencia de ciertos autores sugiere que este método puede ser difícil de utilizar en animales muy hipotensos, fríos o con escalofríos y temblores (Crowe y Spreng, 1997).

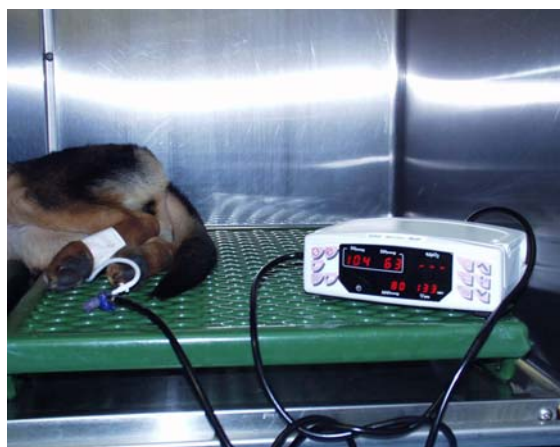


Figura 17: Dispositivo oscilométrico automatizado

Esta técnica nos proporciona lecturas concretas de la presión arterial sistólica, diastólica y media, además de la frecuencia del pulso, pero con ella no es posible vigilar el flujo sanguíneo continuo. Se ha demostrado que la presión sistólica es el parámetro más variable y que depende de la edad, raza, sexo, temperamento, estado de la enfermedad, régimen de ejercicio y, en menor medida, de la dieta; aunque la edad y la raza son, con diferencia, los más influyentes (Bodey y Michell, 1996).

Para la realización de las mediciones se coloca un manguito hinchable en una extremidad o en la cola del animal, que se infla y desinfla automáticamente. A medida que se libera el aire del manguito presurizado, se desarrollan oscilaciones en la presión del mismo al aproximarse a la presión arterial sistólica; su amplitud aumenta cuanto más se aproxima la presión del manguito a esta presión, se incrementan más en la presión arterial media y declinan con rapidez a medida que se alcanza la presión diastólica. El método oscilométrico manual para determinar la presión arterial mediante la observación de las oscilaciones del esfigmomanómetro es una técnica consagrada por el tiempo que utilizan los médicos; sin embargo, con frecuencia este método es muy impreciso. No ha sido posible detectar e interpretar con exactitud las oscilaciones de la presión del manguito hasta que se desarrolló la tecnología de microprocesadores y transductores, que permitieron mediciones automatizadas precisas y reproducibles (Hansen, 1997). Las funciones de todos los dispositivos oscilométricos automatizados para medir la presión arterial se basan en principios similares y difieren principalmente en las reglas y algoritmos utilizados para determinar las presiones y detectar y responder a artefactos o alteraciones del ritmo (Ramsey, 1991).

La primera etapa de la medición de la presión arterial consiste en inflar el manguito hasta un valor superior al sistólico. Después de presurizar el manguito, la presión se mantiene constante mientras el microprocesador toma muestras de sus oscilaciones. A continuación se desinfla el manguito de manera gradual, con descensos de 5 a 10 mmHg. En cada etapa el microprocesador mide, promedia y registra la amplitud de las oscilaciones de la presión. El desinflado escalonado y el muestreo se repiten unas cinco veces después de que las amplitudes de la oscilación llegan al máximo y comienzan a disminuir. La forma y tamaño de las oscilaciones se utilizan para determinar y rechazar artefactos. La presión arterial sistólica y diastólica se estiman al identificar las regiones de presión en que aumenta y disminuye con rapidez, respectivamente, la amplitud de la oscilación. La presión media suele ser la presión más baja del manguito con las mayores oscilaciones promediadas (Hansen, 1997).

En la clínica veterinaria se ha utilizado la oscilometría automatizada durante más de dos décadas y proporciona mediciones que se correlacionan estrechamente con las obtenidas de forma directa (Hamlin *et al.*, 1982; Coulter y Keith, 1984; Pettersenet *et al.*, 1988). Es necesario obtener cinco lecturas consecutivas, descartar los valores extremos y promediar los tres restantes (Hansen, 1997).

Recientemente ha sido introducido un nuevo método oscilométrico conocido como HDO (oscilometría de alta definición) (Memo Diagnostic ®, S + B medVET GMBH, Babenhausen, Alemania), que permite un análisis en tiempo real de la señal oscilatoria del pulso sanguíneo con una asombrosa sensibilidad, 10000 veces mayor que el oído humano. Con este tipo de monitor, podemos detectar las oscilaciones de la onda pulsátil arterial de cada latido y valorar la contracción del ventrículo mediante un transductor de presión de gran sensibilidad, gracias a un microprocesador de alta velocidad. El HDO también tiene una función que nos permite obtener automáticamente una media de varias lecturas de la presión arterial. Gracias a su gran sensibilidad y a la posibilidad de conectar la unidad a un ordenador portátil, podemos observar la forma completa de la onda pulsátil, desde la fase presistólica hasta la fase postdiastólica. En definitiva, esta unidad presenta muchas ventajas con respecto al modelo anterior (Crowe, 2008):

- Las lecturas obtenidas tanto de la presión arterial sistólica como diastólica presentan una mayor precisión (pueden variar entre 40 y 20 mmHg respectivamente).
- La unidad HDO es útil para valorar la presión arterial en situaciones de hipotensión, proporcionando medidas reales, mientras que la unidad convencional no es un método útil en estas situaciones.
- Nos permite medir la presión arterial en gatos de pequeño tamaño y otros pequeños animales como hámsteres o jerbos, algo que no era posible con la unidad convencional.
- El HDO puede detectar a tiempo real diferencias en el volumen de eyección de cada latido.
- Esta nueva unidad es más pequeña y fácil de utilizar que el oscilómetro convencional y que el Doppler.
- El HDO es capaz de determinar la presión arterial con ritmos cardiacos superiores a 400 latidos por minuto, mientras que con el oscilómetro convencional no es posible estimarla con ritmos superiores a 160 latidos por minuto.
- El HDO mantiene su precisión tanto a presiones muy elevadas (> 160 mmHg) como muy bajas (< 60 mmHg).
- El HDO también nos permite almacenar toda la información obtenida en un ordenador por si es necesario revisarla en futuros análisis.

3.2.3.1.2. MÉTODO ULTRASÓNICO (MÉTODO DOPPLER)

El ultrasonido Doppler se introdujo en medicina en 1959 para medir velocidades de flujo sanguíneo. Su uso fuera del laboratorio de investigación se inició en 1967, cuando se utilizó clínicamente para valorar el flujo sanguíneo arterial en vasos periféricos y detectar tromboembolismos y arteriosclerosis (Mozersky *et al.*, 1975; Crowe y Spreng, 1997). Dos años más tarde fue publicada la aplicación de un dispositivo Doppler para medir indirectamente la presión arterial en el hombre (Kirby *et al.*, 1969; Crowe y Spreng, 1997).

El uso del efecto Doppler para medir la presión arterial en perros y gatos fue descrito por primera vez en la literatura veterinaria en 1977 (Weiser *et al.*, 1977; McLeish, 1977). En los últimos años se han utilizado con frecuencia métodos Doppler (figuras 18 y 19) para la vigilancia continua del flujo sanguíneo y valoración de la presión arterial en muchas urgencias, cuidados de pacientes críticos y prácticas quirúrgicas veterinarias. No sólo es posible vigilar la frecuencia del pulso, sino también valorar de manera objetiva cambios en la fuerza de la contracción cardíaca y el volumen sistólico, datos que no pueden estimarse con otros métodos de vigilancia.

Existen varios tipos de unidades Doppler. Por un lado tenemos las que simplemente detectan el flujo de sangre a través de un sonido audible a través de un altavoz o de unos auriculares. Otros modelos tienen una salida para grabadora diseñada para funcionar con la entrada CD de un electrocardiógrafo. Es posible representar gráficamente una onda que corresponde a la potencia de la señal eléctrica generada con el Doppler. Estas unidades tienen como fin detectar y valorar el flujo sanguíneo, arterial y venoso, y vigilar la presión arterial cuando se utilizan con un manguito neumático y un esfigmomanómetro.

Las unidades Doppler son fáciles de utilizar y pueden detectar, con la aplicación de una sonda pequeña, el flujo sanguíneo incluso en los pacientes de menor tamaño, como una rata de 50 g o un ave de 25 g, por lo que su uso es muy recomendable en la clínica actual.

La unidad Doppler consiste en un altavoz amplificador electrónico, una batería interna recargable y una sonda plana. La sonda es un transductor Doppler de onda continua (CW-Doppler) y consiste en dos cristales piezoeléctricos de cuarzo; uno de ellos se utiliza para transmitir un haz ultrasónico continuo a una frecuencia establecida (entre 2 y 10 Mhz) mientras el otro actúa como receptor constante. Las ondas sonoras atraviesan el tejido y emiten cierto eco con una frecuencia diferente. El cambio de frecuencia que ocurre cuando la onda que se refleja choca con un objeto en movimiento se llama variación Doppler (Crowe y Spreng, 1997).



Figura 18: Unidad Doppler para la medición de la presión arterial



Figura 19: Medición de la presión arterial en un perro mediante el método Doppler

El principio Doppler y sus cambios de frecuencia pueden utilizarse en diversas mediciones del flujo sanguíneo en vasos superficiales. Los ecos que detecta el Doppler provienen de los eritrocitos que se mueven a diferentes velocidades en los vasos sanguíneos (Mozersky *et al.*, 1975; Crowe y Spreng, 1997; Ware, 2009). Si las células se dirigen hacia el transductor, aumenta la frecuencia de las ondas sonoras y disminuye la longitud de onda. Si las ondas sonoras chocan con un flujo sanguíneo que se aleja del transductor, disminuirá la frecuencia de las ondas sonoras que se reflejan y aumentará la longitud de onda. La diferencia en las frecuencias de la onda sonora se convierte en impulsos eléctricos equivalentes por el cristal piezoeléctrico receptor, que constituyen el sonido y silbido que se escucha con cada onda de pulso generada.

Es importante resaltar que la frecuencia de la variación Doppler aumenta a medida que disminuye el ángulo entre el haz ultrasónico y los vasos. Esto condicionará la posición de la sonda, que debe sostenerse tan plana como sea posible hacia la superficie de la piel, para detectar mejor el flujo sanguíneo de los vasos que se encuentran paralelos a la superficie. También es necesario moverla lo mínimo posible para eliminar “ruidos” y detectar con precisión la velocidad del flujo sanguíneo.

Lo primero que se debe realizar a la hora de medir la presión arterial del perro es rasurar el pelo del paciente justo encima del cojín metacarpiano palmar o metatarsiano plantar, hasta lograr una placa sin pelo tan grande como la sonda. Se aplica gel de acoplamiento en la porción cóncava de la sonda de flujo y se fija firmemente con una cinta. El gel se requiere para facilitar la transmisión del ultrasonido. Se conecta el amplificador y se manipula la sonda hasta escuchar con claridad un silbido, que es generado por el flujo sanguíneo a través del arco arterial superficial palmar o plantar, alimentado por las ramas digitales comunes de la arteria radial o tibial caudal, respectivamente. Cada

vez que late el corazón se genera un flujo y se escucha un silbido cuya intensidad relativa corresponde a la fuerza y cantidad de flujo sanguíneo existente.

Para medir la presión arterial con Doppler, se modificó el método de Korotkoff, utilizando el Doppler en lugar del estetoscopio para “escuchar” el flujo sanguíneo. Ello requiere la colocación de un manguito de tamaño apropiado en posición proximal respecto a la sonda de flujo, unido a un esfigmomanómetro aneroide (Crowe y Spreng, 1997). Como ya hemos resaltado anteriormente, es muy importante tanto el tamaño como la colocación del manguito para no obtener falsas mediciones. En los miembros anteriores, el manguito se envuelve en el antebrazo, a media distancia entre el codo y el carpo; en los posteriores, en el área inmediatamente distal al corvejón o por debajo de la articulación de la rodilla en el caso de los gatos. Si el animal debe permanecer en estación también es posible su colocación alrededor de la base de la cola, utilizando el flujo de la arteria coccígea ventral (Brum y Morgan, 1999).

Después de seleccionar un manguito, se fija al miembro y se sujeta alrededor con esparadrapo para evitar que se afloje. Se une el esfigmomanómetro al manguito y se infla hasta 200-250 mmHg. Debe abrirse gradualmente la válvula del manómetro para desinflar con lentitud el manguito. El punto en el que se escucha el primer silbido corresponde a la presión sistólica y cuando cambia de su ruido pulsátil corto característico a uno continuo, más prolongado, indica la presión diastólica aproximada. Si no es posible detectar un cambio en el sonido, entonces no es factible determinar la presión diastólica. Este hecho es común en vasos pequeños, en los que están inelásticos o bajo la influencia de la acción de catecolaminas (Crowe y Spreng, 1997; Ware, 2009).

Cabe señalar que las determinaciones ultrasónicas de la presión arterial sistólica se correlacionan estrechamente con la medición directa en perros normales e hipertensos (Weiser *et al.*, 1977). Las desventajas de este método incluyen la dificultad para obtener mediciones en animales hipotensos o pequeños, la existencia de interferencias por el movimiento del cuerpo, la incapacidad para determinar la presión arterial media y, en muchas ocasiones, la diastólica (Hansen, 1997; Ware, 2009).

3.2.3.2. VIGILANCIA INVASIVA (DIRECTA) DE LA PRESIÓN ARTERIAL

La manera más exacta de medir la presión sanguínea es mediante punción arterial (Weiser *et al.*, 1977; Hansen, 1997; Ware, 2009). El uso de catéteres permanentes para la vigilancia directa de presión arterial en los animales permite, además de una medición más precisa, la extracción indolora de múltiples muestras de sangre. Por otro lado, las desventajas que presenta son la dificultad técnica para colocar catéteres arteriales, el estrés y la molestia que supone su colocación para el animal, el coste del equipo y el riesgo de hemorragia o infección (Hansen, 1997). En este sentido han sido

descritos varios métodos para disminuir el dolor que se le produce al perro en el momento de introducir el catéter como son los analgésicos sistémicos (Weiser *et al.*, 1977; Stepien y Rapoport, 1999) y la anestesia local (Freundlich *et al.*, 1972; Pettersen *et al.*, 1988; Stepien y Rapoport, 1999).

La arteria más usual para realizar el cateterismo es la metatarsiana dorsal. Las ventajas de utilizar este vaso incluyen su localización superficial sobre los huesos del metatarso y que, en caso de hemorragia por los intentos de cateterismo sin éxito o después de extraer el catéter, es fácil comprimir la arteria para controlarla. Otra alternativa puede ser la arteria femoral, pero el riesgo de que se produzca una hemorragia importante es muy alto y es esencial vigilar de manera constante la colocación del catéter (Hansen, 1997; Ware, 2009).

3.2.4. VALORES NORMALES DE LA PRESIÓN ARTERIAL Y POSIBLES CAUSAS DE HIPERTENSIÓN E HIPOTENSIÓN

Definir los límites para las presiones arteriales sistólica y diastólica “normales” en perros y gatos no resulta una tarea fácil (Bodey y Michell, 1996; Kienle y Kittleson, 2000; Ware, 2009). Estos valores sí que se han determinado con precisión en la población humana. Por norma general, una presión arterial diastólica superior a 90 mmHg en una persona adulta en reposo se considera una prueba de hipertensión arterial sistémica diastólica. Incluso aumentos leves de la presión diastólica están asociados con elevaciones del riesgo de morbilidad y mortalidad por causas cardiovasculares en pacientes humanos (Kaplan, 1997). No obstante, la mayoría de las personas desarrollan enfermedades cardiovasculares derivadas de la hipertensión arterial leve durante décadas, un período de tiempo superior a lo que llegan a vivir la mayoría de perros y gatos. Por lo tanto, es probable que no sea tan importante detectar aumentos leves de la presión en perros y gatos ni determinar valores concretos para el límite superior en estas especies (Kienle y Kittleson, 2000).

Existen numerosos trabajos publicados en los que se ha estudiado la presión arterial normal en el perro, tanto con métodos invasivos como no invasivos (tabla 3). Las diversas situaciones en las que se ha determinado la presión arterial y las distintas técnicas utilizadas hacen muy difícil establecer un intervalo de normalidad para la presión arterial sistólica en el perro (Spangler *et al.*, 1977). Por otro lado, parece que se han llegado a establecer unos valores máximos de normalidad basándose en la experiencia clínica y el sentido común, considerándose que la presión diastólica normal máxima en perros es de 100 mmHg (Kittleson y Olivier, 1983; Brown, 2007). Los aumentos leves o moderados de la presión diastólica se sitúan entre 100 y 120 mmHg. En pacientes humanos, una presión diastólica de más de 130 mmHg se considera gravemente aumentada y siempre requiere tratamiento inmediato (Kaplan, 1997). Es poco probable que ese límite sea muy distinto en perros y gatos. La presión arterial sistólica es más variable que la diastólica y está más influenciada por el estrés y el miedo. Por lo tanto,

debe interpretarse de forma diferente en un paciente agitado o asustado que en uno tranquilo, y puede haber variaciones importantes entre un perro y un gato. Así, diversos autores consideran que una presión arterial sistólica superior a 150 mmHg en un gato en reposo es anormal si se ha determinado por medios no invasivos, y que una presión de 180 mmHg en un perro asustado y determinada por punción de la arteria femoral se encuentra dentro de los límites normales. Es cierto que cualquier presión arterial sistólica por encima de 180 mmHg es elevada, pero incluso ese límite sólo es válido si la determinación es precisa y el paciente está razonablemente tranquilo (Kienle y Kittleson, 2000). Hay muchos ejemplos de perros sanos que tienen presiones arteriales sistólicas superiores a 200 mmHg y diastólicas de más de 120 mmHg (Spangler *et al.*, 1977). Además, hay que tener en cuenta que, al igual que en las personas (Safar, 1990), los valores de la presión arterial aumentan considerablemente con la edad del perro, así como otros factores como el sexo (las hembras presentan presiones más bajas que los machos), la raza, el temperamento, el peso o la dieta del animal (Bodey y Michell, 1996). Por tanto, cualquier determinación debe interpretarse con cautela y ser reevaluada antes de tomar cualquier decisión (Kienle Kittleson, 2000).

TÉCNICA	PA SISTÓLICA	PA MEDIA	PA DIASTÓLICA
Directa (punción arterial)			
Anderson y Fisher, 1968	144±15	104±13	81±9
Cowgill y Kallet, 1983	148±16	102±9	87±8
Chalifoux <i>et al.</i> , 1985	154±31	115±16	96±12
Stepien <i>et al.</i> , 1999	154±20	107±11	84±9
Método Oscilométrico			
Coulter y Keith, 1984	144±27	110±21	91±20
Bodey y Michell, 1996	131±20	97±16	74±15
Kallet <i>et al.</i> , 1997	137±15	102±12	82±14
Stepien <i>et al.</i> , 1999	150±20	108±15	71±18
Meurs <i>et al.</i> , 2000	136±16	101±11	81±9
Método Doppler			
Chalifoux <i>et al.</i> , 1985	145±23		
Remillard <i>et al.</i> , 1991	150±16		
Stepien <i>et al.</i> , 1999	151±27		

Tabla 3: Valores medios de la presión arterial (mmHg) en perros sanos, obtenidos mediante distintas técnicas en diferentes estudios

La hipertensión arterial sistémica se puede definir sencillamente como una presión arterial persistentemente elevada. El término hipertensión arterial sistólica aislada se refiere a un trastorno en el que solamente la presión arterial sistólica supera de forma persistente el valor de referencia correspondiente (Brown, 2007). Esto mismo se cumple para la hipertensión arterial diastólica. En perros y gatos, la definición de hipertensión arterial sistémica es controvertida, si bien algunos autores la identifican con valores de la presión arterial sistólica por encima de los 180 mmHg (Stepien, 2000) (tabla 4), otros sugieren que ya existe hipertensión con valores superiores a 160 mmHg obtenidos en determinaciones precisas y repetidas de la presión arterial en un animal tranquilo (Brown, 2007; Brown *et al.*, 2007). En el pasado, a los facultativos les preocupaba más el incremento de la presión arterial diastólica, pero recientemente diversos estudios indican que las lesiones en órganos diana, especialmente las renales, presentan una correlación más directa con el grado de incremento de la presión arterial sistólica. La hipertensión arterial sistólica aislada es frecuente en personas ancianas como resultado de la pérdida de elasticidad arterial, que se agrava a medida que la pared arterial se vuelve rígida con la edad. Aunque se ha observado hipertensión sistólica y diastólica aislada en perros y gatos, aún se debe investigar la prevalencia y la importancia de estos datos en medicina veterinaria. La hipertensión arterial sistémica se suele clasificar según su causa en primaria (idiopática) o secundaria. La hipertensión idiopática se produce cuando existe una presión arterial constantemente elevada y una evaluación diagnóstica exhaustiva no logra identificar la causa de la hipertensión. La hipertensión secundaria se produce cuando existe una causa conocida, generalmente una enfermedad que altera las funciones renales o neurohormonales (Brown, 2007). Así, la hipertensión arterial secundaria se observa comúnmente en perros y gatos con fallo renal crónico, con alteraciones metabólicas o endocrinas como el hipertiroidismo, el hiperadrenocorticismo o la diabetes mellitus, feocromocitomas, enfermedades hepáticas o en animales que están siendo tratados con fármacos como los corticosteroides, la fenilpropanolamina, la ciclosporina A o la eritropoyetina (Brown y Henik, 1998; Fuentes, 2004; Brown, 2007; Brown *et al.*, 2007).

TÉCNICA	SOSPECHA DE HIPERTENSIÓN	HIPERTENSIÓN
Directa (punción arterial)	P. sistólica 180-200	P. sistólica >200
	P. diastólica 100-110	P. diastólica >110
	P. media 125-135	P. media >135
Método Oscilométrico	P. sistólica 170-190	P. sistólica >190
	P. diastólica 100-110	P. diastólica >110
	P. media 125-135	P. media >135
Método Doppler	P. sistólica 180-200	P. sistólica >200
	P. diastólica 100-110	P. diastólica >110

Tabla 4: Valores de corte (en mmHg) para el diagnóstico de hipertensión en perros (Stepien, 2000)

Desafortunadamente, muchos animales con hipertensión son inicialmente asintomáticos y ésta puede pasar desapercibida durante meses o años, hasta que se manifiestan lesiones tisulares irreversibles y se inicia una insuficiencia orgánica. Los síntomas están asociados a los órganos diana afectados, siendo los más frecuentes los ojos (hipema o desprendimiento de retina), los riñones (daño glomerular), el cerebro (hemorragia cerebral) y el corazón (hipertrofia miocárdica, pudiendo aparecer un soplo de regurgitación mitral o un sonido de galope) (Fuentes, 2004; Stepien, 2004). Aunque sigue siendo en cierta medida especulativo y algunas razas de perros (especialmente los Galgos) presentan valores de referencia de la presión arterial anormalmente elevados, cada vez existen más datos que indican que los gatos y la mayoría de razas de perros con hipertensión sistémica presentan riesgo de sufrir efectos adversos (Brown, 2007; Brown *et al.*, 2007) (tabla 5). Estos efectos de la hipertensión sistémica se observan con mayor frecuencia cuando la presión arterial sistólica supera los 180 mmHg, especialmente si se produce un incremento de 30 mmHg o más en 48 horas. Estas complicaciones comprenden retinopatía hipertensiva (hemorragia intraocular, edema retiniano, o desprendimiento de retina en gatos y perros), encefalopatía hipertensiva (estupor progresivo, coma y convulsiones asociados a edema intracraneal) e “ictus” del sistema nervioso central (poco frecuente en perros y gatos). Con una presión arterial sistólica de 160-180 mmHg también se pueden observar cambios crónicos provocados por el daño hipertensivo en riñones, ojos y sistema cardiovascular (Brown, 2007).

CATEGORÍA	PA SISTÓLICA (mmHg)	PA DIASTÓLICA (mmHg)	RIESGO DE DAÑO EN ÓRGANOS DIANA
I	< 150	< 95	Riesgo mínimo
II	150-159	95-99	Riesgo bajo
III	160-179	100-119	Riesgo moderado
IV	≥ 180	≥ 120	Riesgo alto

Tabla 5: Clasificación de la presión arterial (mmHg) en perros y gatos en función del riesgo de lesión en los órganos diana (Brown *et al.*, 2007)

La hipotensión es una reducción patológica de la presión arterial que puede poner en peligro la vida del animal. En la literatura existen diversas opiniones acerca de los límites que determinarían una posible hipotensión, que oscilan de 80 a 110 para la presión sistólica y de 40 a 60 para la diastólica, dependiendo de si el animal está consciente o bajo los efectos de la anestesia (Erhardt *et al.*, 2003; Waddell, 2007) (tabla 6). Como causas de hipotensión se señalan la disminución de la precarga cardíaca, el descenso del tono vascular y la disfunción cardíaca. Una hipotensión no tratada puede provocar shock, que se define como la perfusión y oxigenación insuficiente de los tejidos (Waddell, 2007).

	NO ANESTESIADO	CON ANESTESIA INHALATORIA
Hipotensión leve	< 100/60	< 90/60
Hipotensión moderada	< 90/50	< 80/50
Hipotensión grave	< 70/50	< 60/40

Tabla 6: Límites para el diagnóstico de hipotensión sistólica y diastólica (en mmHg) en perros conscientes y bajo anestesia inhalatoria (Erhardt *et al.*, 2003)

La hipovolemia es la causa principal del desarrollo de la hipotensión y se puede producir por (Erhardt *et al.*, 2003):

- Un déficit de fluidos extracelulares debido a un inadecuado consumo de agua o a la existencia de diarrea, vómitos o a un aumento de la diuresis.
- Un inadecuado volumen intravascular que puede ocurrir por pérdida de sangre entera, suero o por hipoproteinemia.

Los signos clínicos asociados a la hipotensión dependen de la intensidad y de la causa del trastorno. En perros, la hipotensión se suele asociar a taquicardia, pulsos de espasmódicos a débiles, mucosas pálidas, tiempo de llenado capilar retardado, obnubilación y debilidad. Si la causa subyacente es una sepsis, las mucosas pueden estar congestivas o enrojecidas con un tiempo de llenado capilar rápido. Las causas cardíacas de hipotensión también pueden alterar el cuadro clínico, presentándose arritmias, pulsos débiles e irregulares e incluso es posible observar bradicardia. La hipotensión también se suele asociar con una disminución de la diuresis, hiperventilación, hipotermia y con extremidades frías.

Es fundamental que el tratamiento de la hipotensión siempre vaya dirigido a corregir el trastorno fisiológico subyacente. El primer paso imprescindible es la diferenciación entre causas cardíacas y no cardíacas de hipotensión. Si el animal presenta hipovolemia, se debe administrar rápida y correctamente una fluidoterapia intravenosa hasta alcanzar la normovolemia y encontrar la causa subyacente, ya que de no ser así, el animal entrará de forma inevitable en shock. Si el animal sigue hipotenso una vez lograda la normovolemia, se debe considerar la administración de hipertensores. Entre los más utilizados figuran la dopamina, la adrenalina y la fenilefrina. Estos fármacos se deben ajustar hasta conseguir el efecto, por lo que requieren una vigilancia frecuente de la presión arterial. Nunca deben sustituir una sueroterapia adecuada, ya que la mayoría de los perros y gatos con hipovolemia ya presentan una vasoconstricción compensadora (Waddell, 2007).

3.2.5. EVALUACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL EN PERROS CON BABESIOSIS

En un estudio realizado en el año 2000, Jacobson y colaboradores midieron la presión arterial de manera no invasiva mediante la técnica oscilométrica en 30 perros infectados de manera natural por *Babesia canis rossi*. La hipotensión fue el hallazgo más frecuente y ésta era más severa conforme aumentaba la gravedad de la enfermedad, así fue diagnosticada en perros con babesiosis complicada o bien, no complicada grave; pero no se encontró ninguna correlación entre los valores de la presión arterial y la mayoría de los parámetros clínicos, únicamente una correlación negativa con el recuento de células blancas/neutrófilos inmaduros. Mientras, la hipertensión apareció en un único perro que padecía babesiosis no complicada leve. Los resultados de este estudio apoyan la utilidad de los métodos indirectos de medición de la presión arterial como herramienta clínica (Jacobson *et al.*, 2000). Estos hallazgos coinciden prácticamente en su totalidad con los obtenidos por Schetters *et al.* (2009) en un estudio experimental realizado con 10 perros de raza Beagle a los que inocularon distintas concentraciones de células infectadas por *B. canis*. En estos perros la presión arterial media descendía después de la infección y este descenso dependía de la dosis infecciosa que se les administraba. Además, en los animales que recibían una mayor dosis este descenso era lo suficientemente importante como para poner en peligro la vida del animal, por lo que requerían un tratamiento inmediato. Después del tratamiento, los perros recuperaban valores normales de la presión arterial en menos de 24 horas. Es interesante señalar que en aquellos perros a los que se les inoculó una carga parasitaria menor la presión arterial recuperó valores normales antes de la instauración del tratamiento. En un estudio realizado en el noroeste de España con 30 perros, más del 50% de los pacientes con babesiosis complicada presentaban hipotensión, no obstante, al contrario del estudio llevado a cabo por Jacobson *et al.* (2000), no fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con babesiosis complicada y no complicada, lo que quizás pueda deberse a la menor patogenicidad de la subespecie de *Babesia* presente en esta zona (Fraga *et al.*, 2007a). Otra diferencia importante es que, mientras que en el estudio llevado a cabo en Sudáfrica por Jacobson *et al.* (2000) ningún perro con babesiosis complicada padecía hipertensión, en otro trabajo realizado en España, varios de los pacientes diagnosticados de babesiosis complicada sí tenían valores de la presión arterial compatibles con hipertensión, especialmente aquellos con fallo renal (Fraga *et al.*, 2006).

La presencia de hipotensión en un elevado porcentaje de perros con babesiosis complicada justifica la hipótesis de que los mecanismos inflamatorios juegan un papel importante en este síndrome (Maegraith *et al.*, 1957; Jacobson y Clark, 1994; Reyers *et al.*, 1998).

La causa concreta de la hipotensión producida por *Babesia* no se conoce con exactitud. Desde un punto de vista cardiovascular, los mecanismos que se citan con más frecuencia son un incremento

de la permeabilidad capilar con movimientos de fluidos hacia el intersticio, una reducción del tono vascular con encharcamiento venoso y/o una disminución de la función miocárdica (Jacobson *et al.*, 2000; Lobetti y Jacobson, 2001). Se piensa que la patogénesis de este fenómeno en la malaria puede ser la reducción del volumen efectivo de sangre por la vasodilatación periférica, seguido por la pérdida de vasopresores, noradrenalina, activación de la renina y reducción de la hemodinámica renal (Sitprija *et al.*, 1996). Basándose en esto, la reducción del tono vascular es, probablemente, el mecanismo primordial de hipotensión en la babesiosis (Jacobson *et al.*, 2000); aunque también los metabolitos del óxido nítrico, que aparecen de forma natural en la babesiosis canina, pueden jugar un papel importante como potentes y ubicuos vasodilatadores (Jacobson *et al.*, 2002).

Por tanto, la prevención del shock mediante una temprana monitorización de la presión arterial y una apropiada fluidoterapia es una estrategia racional en perros con babesiosis complicada y no complicada grave (Jacobson *et al.*, 2000).

3.3. ECOGRAFÍA

3.3.1. DESARROLLO DE LA ECOGRAFÍA COMO TÉCNICA DIAGNÓSTICA

La ultrasonografía o ecografía como técnica diagnóstica ha tenido una difusión muy rápida gracias a su inocuidad, facilitando la posibilidad de practicar numerosos estudios en un mismo paciente sin los riesgos inherentes a la radiación y a un coste relativamente bajo (Loriot *et al.*, 1997; Wells, 2006).

Los inicios de la ecografía se remontan a finales del siglo XIX cuando Pierre Curie, en 1890, descubre la piezoelectricidad. El efecto piezoeléctrico es la capacidad de transformar, por una parte, la energía eléctrica en ondas ultrasónicas y por otra, la energía de vibración transmitida por el rebote de las ondas ultrasónicas en energía eléctrica.

Las aplicaciones prácticas no se hicieron esperar, ya que en 1917 los físicos Paul Langevin y Chilowsky produjeron el primer generador piezoeléctrico de ultrasonidos, cuyo cristal actuaba también como receptor y generaba cambios eléctricos al recibir vibraciones mecánicas. El aparato fue utilizado para estudiar el fondo marino, como una sonda ultrasónica para medir profundidad. Los trabajos de Langevin sirvieron de base al desarrollo del sonar durante la Segunda Guerra Mundial, utilizado para la detección exacta tanto de los submarinos como de los bancos de peces.

Entre 1920 y 1940, la industria metalúrgica utilizó este fenómeno para el control de los materiales y especialmente para detectar los defectos de fabricación; hoy en día es una técnica de aplicación habitual en control de calidad.

La utilización de los ultrasonidos de alta frecuencia en ambientes médicos se inició en la primera mitad del siglo XX, gracias a los esfuerzos de Word y Loouris en 1927. Ampliamente utilizados en los años 50, su aplicación disminuye muy rápidamente a causa de los efectos biológicos nefastos en el rango de frecuencias empleado. Fue sólo en una segunda fase cuando se planteó usar esta técnica como método de investigación, aplicando frecuencias mucho más bajas, lo cual les confería una total inocuidad. A partir de entonces, y muy rápidamente, primero en el hombre en la década de los años 60 y luego en animales en los años 80, el desarrollo de la ecografía o ecotomografía fue explosivo. Esto fue posible gracias a las mejoras efectuadas permanentemente en los ecógrafos, así como a los múltiples trabajos de investigación realizados en todo el mundo.

La ginecología y la obstetricia experimentaron un auge espectacular con el desarrollo de la ecografía. Esta técnica es insustituible en reproducción, especialmente para las especies animales, tanto para el seguimiento de la gestación como para su diagnóstico (Loriot *et al.*, 1997).

Al principio el desarrollo de la ecografía en veterinaria fue lento y limitado, debido en parte, al coste de los equipos y la falta de formación específica. Sin embargo, en la actualidad, su uso ha crecido considerablemente hasta convertirse en una parte integral e indispensable del proceso diagnóstico en la mayoría de las clínicas de pequeños animales. Todo ello ha causado un importante impacto en la profesión veterinaria, ya que cada vez es mayor la demanda de veterinarios especialistas en ecografía, dada su vital importancia a la hora de llevar a cabo gran parte de los diversos diagnósticos que precisan de esta técnica de apoyo (Nyland *et al.*, 2002a).

Cabe destacar la gran cantidad de ventajas que nos aporta esta técnica, ya que es un procedimiento no invasivo y sin efectos biológicos adversos ni para el paciente ni para el operador. Por tanto, no son necesarias medidas de protección como en radiología. La exploración ecográfica puede ser repetida tantas veces como se estime necesario y sin limitación de tiempo. Es importante resaltar que con frecuencia, los hallazgos ecográficos permiten prescindir de un estudio radiológico (Green, 1996a; Fritsch y Gerwing, 1996).

3.3.2. PRINCIPIOS FÍSICOS DE LA ECOGRAFÍA

La ecografía es un método de diagnóstico por imagen que se basa en la utilización de ultrasonidos. Constituye la alternativa o el complemento ideal del radiodiagnóstico, ya que permite valorar los tejidos blandos y su estructura interna. Para conseguir una buena calidad de imagen y una correcta interpretación de la misma se requieren amplios conocimientos físicos y técnicos (Fritsch y Gerwing, 1996).

Los ultrasonidos se definen como ondas de sonido de frecuencia superior a la audible por el oído humano, es decir, por encima de 20.000 ciclos por segundo (20 kHz) (Fritsch y Gerwing, 1996; Nyland *et al.*, 2002a). La onda ultrasónica es producida por el cristal piezoeléctrico contenido en la sonda, que convierte una señal eléctrica en una onda acústica, lo que se conoce como el fenómeno de transducción. Por esta razón, la sonda se denomina a veces transductor (Loriot *et al.*, 1997). La propagación de este tipo de ondas está ligada a la existencia de moléculas y por lo tanto, de materia. En los tejidos blandos y en los líquidos se propagan en forma de onda longitudinal. Se producen vibraciones de grupos moleculares que conducen a un aumento y disminución de la presión, denominada presión acústica (Fritsch y Gerwing, 1996). La respuesta acústica del medio también es transformada por el cristal en una señal eléctrica analizada por el ecógrafo y transcrita en forma de imagen en la pantalla. Tras la emisión de un corto impulso ultrasónico, se espera al regreso de los ecos reflejados antes de emitir el siguiente impulso (Loriot *et al.*, 1997).

Los transductores se caracterizan por su frecuencia de emisión. En los exámenes diagnósticos empleamos normalmente frecuencias de sonido entre 2 y 10 MHz. Un transductor de ultrasonidos

puede emitir ondas sonoras de una o múltiples frecuencias y es el ecografista el que debe seleccionar la frecuencia adecuada según la región anatómica a examinar (Barr, 1999; Nyland *et al.*, 2002a). A su paso a través de los tejidos, según las conocidas leyes ópticas, este haz de ultrasonidos puede ser reflejado, refractado, difractado, dispersado o absorbido (Fritsch y Gerwing, 1996).

La absorción hace referencia a la conversión de la energía mecánica del pulso de sonido en calor (Nyland *et al.*, 2002a), lo que produce una pérdida de intensidad de aproximadamente 1 dB por cm de profundidad y por MHz en los tejidos blandos. Esta pérdida de intensidad es la responsable de que los ultrasonidos de frecuencias altas tengan menor poder de penetración (Fritsch y Gerwing, 1996).

Los fenómenos de reflexión y dispersión son de gran valor en la ecografía diagnóstica. Cuando una onda ultrasónica pasa de un medio a otro, una parte de la energía incidente es reflejada hacia el transductor, formando la base de la imagen ecográfica. Las características de la reflexión en la interfase de dos medios dependen de la diferencia entre las impedancias acústicas de ambos, es decir, de su capacidad para frenar la transmisión de los ultrasonidos. Para obtener una imagen de buena calidad, el haz debe incidir perpendicularmente a la interfase, si esto no ocurre la onda reflejada no llega al transductor y se pierde (Loriot *et al.*, 1997).

Cuando el haz de ultrasonidos encuentra interfases pequeñas e irregulares en el parénquima de los órganos, se produce dispersión. Este efecto también es llamado reflexión difusa o no especular y es independiente del ángulo del haz. Las diferencias de impedancia acústica son pequeñas comparadas con las de los reflectores especulares y los débiles ecos rebotados son captados únicamente porque son abundantes y se refuerzan los unos con los otros. Estos ecos proporcionan la ecotextura del parénquima observada en los órganos abdominales, pero no representan la anatomía real. Este tipo de dispersión aumenta con los transductores de frecuencias más altas, de manera que con ellos la ecotextura mejora de forma apreciable (Nyland *et al.*, 2002a).

La difracción y la refracción pueden dar lugar a la aparición de artefactos, es decir, imágenes en el monitor que no se corresponden con estructuras anatómicas reales (Fritsch y Gerwing, 1996). Si la interfase entre dos medios es incidida de forma oblicua por el haz de ultrasonidos, el cambio de velocidad que se produce cuando la onda de sonido pasa de un medio a otro hace que el haz se curve. Esto puede producir un artefacto de localización inadecuada de la estructura representada. La alteración de la dirección del haz se denomina refracción (Nyland *et al.*, 2002a).

3.3.3. MODOS DE PRESENTACIÓN ECOGRÁFICA

Existen tres modos ecográficos, modo A, B y M (figura 20), siendo el modo B y el modo M los de uso más frecuente en la clínica veterinaria.

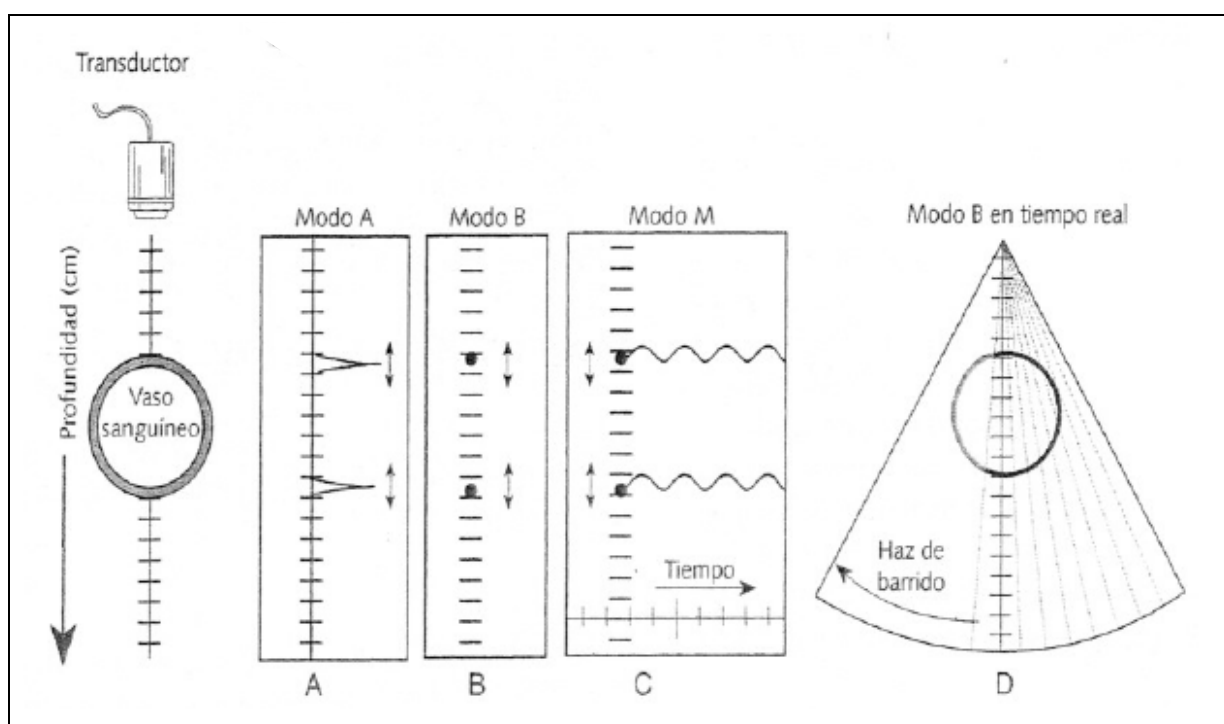


Figura 20: Los diferentes modos ecográficos representan los ecos que regresan como picos o puntos (Nyland *et al.*, 2002a)

El **modo A** (modo amplitud) es el más simple de los tres métodos y el que se usa con menor frecuencia, pero puede tener una utilidad especial para exploraciones oftalmológicas y otras aplicaciones que requieran mediciones precisas de longitud o profundidad. El origen de los ecos y la amplitud se representan en un oscilógrafo en forma de picos, que se originan en una línea base vertical (figura 20A). El transductor está situado en la parte superior de la línea base y la profundidad está representada por una progresión desde la parte superior hasta el fondo de la línea base. Por lo tanto, la posición de los picos a lo largo de la línea base representa la profundidad a la que se originan los ecos. La altura de los picos viene determinada por la magnitud de la diferencia de impedancia y la separación entre ellos por la distancia que existe entre las interfases. En los equipos con modo A, la línea base puede representarse horizontalmente, con la localización del transductor a la izquierda de la línea base y la profundidad creciente hacia la derecha a lo largo de la línea.

En el **modo B** (modo brillo), los ultrasonidos reflejados son representados en el monitor como puntos de diferente brillo. El brillo y la distancia entre los diferentes puntos dependen de la diferencia de impedancia y de la distancia entre las interfases respectivamente. La escala de grises es proporcional a la amplitud de los ecos captados. La posición corresponde a la profundidad a la que se origina el eco a lo largo de una línea única (representando el eje del haz) desde el transductor (figura 20B). El modo B se representa normalmente con el transductor situado en la parte superior de la pantalla y la profundidad aumentando hacia el fondo de la misma. La imagen bidimensional está formada por el conjunto de múltiples haces de ultrasonidos en un plano. Una buena calidad de imagen depende, no sólo de la capacidad de resolución, sino también de una escala de grises amplia y bien diferenciada.

Las sondas de **modo B en tiempo real** representan una imagen en movimiento y en tonos de gris de secciones anatómicas. Esto se consigue realizando un barrido muchas veces por segundo con un haz de ultrasonidos estrecho y enfocado, a través de un campo de visión triangular, lineal o convexo. Se trata de un sistema dinámico de fácil manejo, que necesita un tiempo de exploración corto y que permite observar directamente los movimientos de las diferentes estructuras. Debido a ello es el sistema más utilizado actualmente, tanto en medicina humana como veterinaria. Sin embargo, la anchura y la profundidad que abarcan los ultrasonidos es limitada, por lo que solamente permite visualizar planos parciales del organismo. El campo está compuesto por muchas líneas en modo B, como se ha descrito anteriormente (figura 20D). Los pulsos de sonido son emitidos y los ecos que regresan son recibidos secuencialmente a lo largo de cada línea en modo B del campo, hasta que se forma una imagen completa del sector. Cada línea persiste en el monitor hasta que es renovada por el subsiguiente recorrido del haz. Un transductor que funcione mal puede ilustrar que la imagen está compuesta de una serie de líneas separadas. El diámetro estrecho del haz permite la formación de una imagen tomográfica en sección transversal, que sólo mide algunos milímetros de grosor. El haz puede dirigirse mecánica o electrónicamente a través del campo de visión y la velocidad de constitución (tiempo de renovación de la imagen) depende de la profundidad representada. La velocidad de constitución tiene que ser más lenta para representar profundidades mayores porque se necesita más tiempo para que los ecos regresen al transductor. Cambiando la orientación del transductor sobre la piel, se puede obtener planos sagitales, transversales, dorsales y oblicuos del cuerpo (Nyland *et al.*, 2002a).

El **modo M** o modo TM (modo movimiento o tiempo-movimiento) se utiliza fundamentalmente en ecocardiografía. Las representaciones en modo M registran, normalmente, la profundidad en el eje vertical y el tiempo en el eje horizontal (figura 20C). La imagen se orienta con el transductor en la parte superior. El brillo de la única línea de puntos es proporcional a la amplitud del eco y se extiende a lo largo del monitor. El movimiento de los puntos, cambios en la distancia de las

interfases reflejantes desde el transductor, se registra respecto al tiempo. Las representaciones ecográficas en modo M son útiles para tomar medidas precisas de las paredes y cámaras cardíacas y para evaluar cuantitativamente la motilidad de la válvulas o las paredes en el tiempo (Fritsch y Gerwing, 1996; Nyland *et al.*, 2002a).

3.3.4. EQUIPOS DE ECOGRAFÍA

En el mercado existe una gran variedad de ecógrafos. En veterinaria, en principio, son válidos los equipos fabricados para medicina humana, pero debemos prestar una atención especial a la elección de los transductores, ya que en pequeños animales no se requiere, por lo general, tanta capacidad de penetración como en el hombre. Los transductores destinados a pediatría suelen ser los más indicados para la clínica de pequeños animales, aunque hoy en día existen empresas que ofrecen equipos específicos para medicina veterinaria.

La diferencia entre los distintos ecógrafos radica, no sólo en el tipo de transductor, sino también en las características técnicas del procesamiento de las imágenes. Estos dos aspectos condicionan en conjunto la calidad de la imagen y la facilidad y comodidad de la utilización de los equipos (Fritsch y Gerwing, 1996).

3.3.4.1. TRANSDUCTORES

La elección del transductor depende de la especie animal y del tipo de exploración a efectuar. Al seleccionar la sonda también se selecciona la frecuencia de ultrasonido que se utilizará para una exploración determinada. La frecuencia emitida por un transductor concreto depende de las características de los cristales piezoeléctricos que contiene la cabeza de la sonda. La frecuencia de un cristal es inherente a éste y no puede modificarse mediante los controles del ecógrafo.

Algunos transductores pueden tener función multifrecuencia. Los avances en la tecnología de los transductores permiten obtener imágenes simultáneas de campos próximos y lejanos con ondas sonoras de diferentes frecuencias. Con esto es posible conseguir la máxima resolución para una profundidad determinada sin tener que cambiar los transductores.

La capacidad de seleccionar correctamente el transductor se adquiere con la experiencia, pero las guías generales pueden ayudar al ecografista novel a escoger la frecuencia apropiada (Nyland *et al.*, 2002a).

En general, en veterinaria se utilizan sondas con frecuencias entre 2,5 y 10 MHz. Las sondas de alta frecuencia proporcionan una resolución óptima de la imagen pero tienen una menor capacidad de penetración y se utilizan para explorar áreas situadas a escasa profundidad o superficiales, mientras

que las de baja frecuencia permiten explorar estructuras más profundas en animales de mayor tamaño, pero la resolución de la imagen es menor. Así, en los perros de razas grandes, la exploración abdominal puede llegar a requerir la utilización de un transductor de 3,5 MHz o menos, mientras que en la ecografía oftalmológica se utilizan las sondas con mayor frecuencia. Con todo, dependiendo del equipo, el ecografista puede necesitar cambiar los transductores durante la exploración para optimizar el equilibrio entre la resolución y la penetración (Fritsch y Gerwing, 1996; Barr, 1999).

Hay otros factores que afectan a la calidad de la imagen, como son la longitud del pulso del ultrasonido, el diámetro del haz y la resolución del monitor de vídeo. Estos parámetros normalmente no pueden ser modificados por el ecografista en el momento de la exploración. Sin embargo, la profundidad del punto focal puede ajustarse con el enfoque selectivo o dinámico en los equipos ecográficos más modernos (Nyland *et al.*, 2002a).

Los dos tipos básicos de sondas de uso más frecuente en veterinaria son las sondas sectoriales mecánicas o electrónicas y las sondas tipo “Array” o de alta resolución. Las sondas sectoriales de tiempo real más versátiles son capaces de producir imagen en modo A, modo M y modo B.

Las sondas sectoriales en tiempo real se denominan así porque la forma del haz y la imagen resultante en la pantalla tienen forma de sector o triangular. Este tipo de transductor emite haces divergentes de ultrasonidos a partir de un cabezal relativamente pequeño. El ángulo del sector es generalmente de 90 grados, pero existen ángulos más estrechos o más amplios disponibles para propósitos específicos. Por ejemplo, los ángulos amplios ayudan a aumentar el campo de visión en ecografía abdominal, mientras que los ángulos estrechos son de utilidad para el uso oftalmológico.

Las sondas sectoriales pueden clasificarse como mecánicas o electrónicas, dependiendo del método utilizado para dirigir el haz a través del campo sectorial. En el transductor sectorial mecánico, el barrido se produce mediante un solo cristal piezoeléctrico oscilante, o grupos de cristales ordenados en forma de rueda. Las sondas sectoriales mecánicas no permiten un enfoque variable y las partes en movimiento también se encuentran sujetas a desgaste. La ventaja de los transductores sectoriales radica en su pequeño tamaño y manejabilidad, ya que requieren una mínima superficie de acoplamiento. Esto permite explorar a través de pequeñas ventanas acústicas, como por ejemplo los espacios intercostales. Sin embargo presentan la desventaja de ofrecer una imagen muy pequeña del campo cercano, mala resolución a nivel de zonas profundas y en los bordes, y dificultad en la orientación.

Las sondas que utilizan un transductor compuesto por múltiples elementos se denominan “Arrays” o de alta resolución. Estas sondas pueden tener una gran variedad de configuraciones, pero las más comunes son las lineales, las convexas, las de fase y las anulares. Para cambiar la dirección del haz se utiliza una coordinación precisa en el tiempo que capacita el haz para ser conducido

electrónicamente, proporcionando imágenes en tiempo real en un formato lineal o sectorial. Estos tipos de transductores son fiables porque no tienen partes móviles.

Las sondas lineales de alta resolución contienen múltiples elementos emisores (40-256 cristales) ordenados linealmente que son estimulados por grupos. El haz estrecho es dirigido a través de un campo rectangular disparando los cristales del transductor secuencialmente. Normalmente se dispara más de un cristal a la vez y el enfoque a las profundidades seleccionadas puede lograrse variando el número y secuencia de elementos disparados. Estos transductores presentan distintos tamaños y frecuencias. Su mayor desventaja es el gran tamaño de la superficie del transductor, que dificulta su acoplamiento sobre el paciente, resultando difícil colocar la sonda debajo del esternón o entre los espacios intercostales para obtener cortes del hígado o del corazón. Sin duda, las sondas lineales más pequeñas de este tipo han paliado parcialmente esta limitación para la ecografía abdominal, pero no para la ecocardiografía, donde el tamaño de la superficie de contacto es todavía un obstáculo importante. La gran ventaja de este tipo de transductores es que ofrecen una imagen amplia con buena resolución lateral y del campo cercano, facilitando la orientación.

Las sondas convexas de alta resolución son transductores lineales con la superficie convexa, por lo que emiten ultrasonidos de forma divergente. Tienen la ventaja frente a las lineales de presentar una menor superficie de acoplamiento, manteniendo una imagen amplia de las zonas profundas. Este tipo de sonda también se encuentra en una gran variedad de tamaños y frecuencias. Por todo esto, resulta el transductor ideal para las exploraciones abdominales en pequeños animales.

Los transductores de alta resolución de fase no tienen partes móviles. Generan un campo de visión sectorial disparando los múltiples elementos del transductor en una secuencia electrónica precisa. El haz puede ser dirigido hacia diferentes direcciones y enfocado a varios niveles, lo que permite que el transductor tenga un tamaño pequeño con un campo de visión amplio a mayor profundidad. Las sondas sectoriales, tanto las mecánicas como las electrónicas, tienen la desventaja de tener una visibilidad limitada del campo cercano comparado con los transductores lineales o convexas de alta resolución. Los transductores de alta resolución de fase son particularmente útiles para evaluar estructuras como el corazón, cuyo acceso está limitado a una estrecha ventana intercostal.

Los transductores anulares de alta resolución tienen los múltiples elementos del transductor dispuestos de forma anular. Esta disposición permite un enfoque preciso tanto en el plano transversal como en el lateral. No obstante, una desventaja de este tipo de sistema es que el haz tiene que ser dirigido mecánicamente para producir una imagen en tiempo real. Esto lo hace más susceptible de desgaste que otros tipos de sondas de alta resolución (Fritsch y Gerwing, 1996; Kremkau, 1998; Nyland *et al.*, 2002a).

3.3.5. INTERPRETACIÓN DE LA IMAGEN

Las imágenes ecográficas representan cortes tomográficos de órganos y tejidos. Permiten valorar su situación, tamaño, forma, extensión, delimitación y arquitectura interna (Fritsch y Gerwing, 1996). Por lo tanto, el ecografista debe estar familiarizado con la anatomía tridimensional normal para poder reconocer los artefactos, interpretar las variaciones normales y detectar los cambios patológicos.

Los ecos se originan en interfases perpendiculares al haz. Estos ecos producen límites entre estructuras con apariencia similar al de una sección anatómica transversal gruesa. La ecotextura del parénquima de los órganos está relacionada con la cantidad y distribución de los ecos dispersos procedentes de la estructura del tejido conectivo (Nyland *et al.*, 2002a).

La sangre o el líquido que no contiene células o detritus es anecogénico. A medida que el fluido gana viscosidad debido a aumento de proteínas, células o detritus se vuelve progresivamente más ecogénico (Barr, 1999; Nyland *et al.*, 2002a).


TERMINOLOGÍA UTILIZADA PARA DESCRIBIR LA IMAGEN ECOGRÁFICA	
Ecogénico/ ecodenso/ hiperecoico	La imagen aparece blanca  La imagen aparece negra
Moderadamente ecoico/ ecogénico	
Hipoecogénico/ hipoecoico	
Ecolúcido/ anecoico/ anecogénico	

Tabla 7: Terminología utilizada para describir la imagen ecográfica (Barr, 1999)

El parénquima normal de los órganos y tejidos corporales son visualizados en varias gamas de grises, que son bastante constantes entre diferentes animales (tabla 7). Las enfermedades que afectan de manera difusa a los órganos o tejidos abdominales pueden alterar la relación de ecogenicidad normal.

El tejido conectivo normalmente aparece altamente ecogénico, pero ciertas áreas uniformes con fibrosis y con pocas interfases pueden aparecer en realidad relativamente libres de ecos. Esto puede ser debido a la presencia de pocas interfases perpendiculares al haz.

Las regiones distales a estructuras altamente atenuantes, tales como el hueso o el gas, aparecen oscuras en la imagen debido a la sombra acústica. Los artefactos como la sombra acústica tienen que diferenciarse de las zonas de baja ecogenicidad producidas por líquido o necrosis. Las áreas

distales a zonas de poca atenuación del sonido pueden aparecer brillantes (refuerzo posterior). Este aspecto no debe confundirse con regiones que presentan realmente una ecogenicidad aumentada (tabla 8) (Nyland *et al.*, 2002a).

ORDEN CRECIENTE DE ECOGENICIDAD DE LOS TEJIDOS Y SUSTANCIAS CORPORALES	
1. Bilis, orina	7. Bazo
2. Médula renal	8. Próstata
3. Músculo	9. Pelvis renal
4. Corteza renal	10. Grasa estructural, paredes vasculares
5. Hígado	11. Hueso, aire, límites de órganos
6. Grasa almacenada/de reserva	

Tabla 8: Orden creciente de ecogenicidad de los tejidos y sustancias corporales (Nyland *et al.*, 2002a)

3.3.5.1. ARTEFACTOS

La comprensión de las propiedades físicas de los ultrasonidos y de los distintos artefactos que pueden aparecer es fundamental a la hora de interpretar las imágenes ecográficas. Estos artefactos aparecen frecuentemente durante los exámenes ecográficos de rutina, por lo que es imprescindible su identificación adecuada y conocimiento de los mecanismos físicos que los producen por parte del operador, pudiendo así controlarlos e incluso utilizarlos en beneficio del estudio (Park *et al.*, 1981; Herring y Bjornton, 1985; Penninck, 2002).

Los artefactos son fenómenos que se producen durante la exploración y que no representan realmente las estructuras que están siendo ecografiadas. No corresponden a ninguna anomalía o lesión (Loriot *et al.*, 1997). Su clasificación es dificultosa debido a que varios de ellos pueden ser incluidos en diferentes categorías (Kremkau y Taylor, 1986; Kirberger, 1995). Muchos de los artefactos se producen por un uso inapropiado del equipo, inadecuado procedimiento ecográfico o a una mala preparación de los pacientes. Estos artefactos afectan a menudo a la calidad de la imagen y, por lo tanto, a su interpretación. No obstante, en ecografía no todos los artefactos son indeseables, ya que algunos de ellos pueden facilitar la evaluación de las estructuras al proporcionar información sobre la composición de las mismas (Penninck, 2002; Drost, 2007).

Los artefactos que se observan con mayor frecuencia en la ecografía en dos dimensiones en tiempo real son los siguientes:

- **Reverberación o eco de repetición.** Los artefactos de reverberación son múltiples bandas hiperecogénicas que aparecen en la imagen a intervalos regulares. La reverberación se produce cuando la onda sonora encuentra un área de alta reflectancia y la onda de sonido se refleja hacia el transductor (Park *et al.*, 1981). Cuando ésta llega al transductor, la mayor parte es reflejada de nuevo hacia los tejidos, alcanzando el área de alta reflectancia. Este ciclo de rebote entre el transductor y el paciente se produce muchas veces, generando las bandas hiperecogénicas regularmente espaciadas en la pantalla (Drost, 2007). El número de imágenes de reverberación depende del poder de penetración del haz y de la sensibilidad de la sonda (Penninck, 2002). La distancia entre el transductor y la superficie altamente reflectante determina el espacio de las bandas hiperecogénicas (Drost, 2007). El primer foco reflector es normalmente la interfase piel-transductor, es decir, el aire que queda entre la sonda y el paciente (reverberación externa). Otra causa habitual son los reflectores internos, como los huesos y el gas intestinal, que producen la denominada reverberación interna (Penninck, 2002).

La reverberación varía en función del tamaño, localización, naturaleza y número de reflectores encontrados. Un tipo de reverberación es el artefacto de **cola de cometa**, que es fácilmente reconocible como una serie de pequeños ecos brillantes y cercanos entre sí (Ziskin *et al.*, 1982). Es un trazo vertical hiperecogénico que aparece cuando el haz de ultrasonidos choca con una burbuja de aire o una pequeña superficie mineralizada. El aparato interpreta los intervalos sucesivos entre reverberaciones como un alejamiento, originando entonces una serie de pseudointerfases próximas entre sí en forma de “cola de cometa” (Loriot *et al.*, 1997). Este artefacto aparece frecuentemente al ecografiar el tracto gastrointestinal, el diafragma y los objetos metálicos tales como cuerpos extraños o agujas utilizadas para la realización de biopsias (Wendell y Athey, 1981).

- **Imagen de espejo.** En ocasiones pueden ocurrir errores en la localización de un órgano o estructura cuando se encuentran cerca de una fuerte estructura reflectora como es la interfase diafragma-pulmón. En estas condiciones el artefacto más común es la imagen de espejo (Kremkau y Taylor, 1986; Gardner *et al.*, 1980). La imagen de espejo del hígado sitúa este órgano en la cavidad torácica cranealmente al diafragma, por lo que puede simular una hernia diafragmática o una consolidación pulmonar. Los artefactos de imagen de espejo están producidos por interfases redondeadas y muy reflectoras como la interfase diafragma-pulmón. La imagen de espejo se produce cuando la onda sonora se envía desde el transductor, rebota en la interfase diafragma-pulmón hacia el hígado, y en éste rebota de vuelta a la interfase diafragma-pulmón, desde donde se refleja hacia el transductor. Dado que parte del sonido al rebotar en la interfase diafragma-pulmón sufre un retraso con respecto al recorrido normal, la posición del órgano se altera en la pantalla (Penninck, 2002; Drost, 2007). Otra forma de imagen de espejo tiene lugar cuando la presencia de burbujas de gas dentro del tracto gastrointestinal producen, de forma artefactual, un incremento del grosor de la pared (Wilson *et al.*, 1999).

- **Artefacto de lóbulo lateral y de lóbulo en retícula.** Estos artefactos están producidos por haces de sonido secundarios que emanan en diferente dirección que el haz de sonido primario (Laing y Kurtz, 1982; Barthez *et al.*, 1997). La onda de ultrasonidos emitida por el transductor está compuesta de un haz principal y numerosos haces secundarios (laterales) de diferentes intensidades. Cuando los haces laterales de suficiente intensidad interaccionan con una interfase altamente reflectora los ecos de retorno son erróneamente representados en el trayecto del haz de ultrasonidos principal aunque no se hayan originado en éste. Las superficies curvas como el diafragma, la vejiga y la vesícula biliar, y una interfase altamente reflectora, como el aire, son condiciones frecuentes en las que se producen artefactos de lóbulo lateral (Penninck, 2002). Los ecos del lóbulo lateral son considerablemente menos intensos que los originados en el haz principal, y se aprecian mejor dentro de las estructuras anecoicas (Laing, 1983). Estos artefactos pueden desaparecer cuando el punto focal de un transductor electrónico se sitúa a mayor profundidad o se utiliza un transductor diferente (Penninck, 2002). Los artefactos de lóbulo lateral pueden producirse con cualquier transductor y se asocian con vibraciones del cristal piezoeléctrico, mientras que los artefactos de lóbulo en retícula sólo se producen con transductores de alta resolución (Kremkau y Taylor, 1986).

- **Artefactos de anchura de haz.** Los artefactos de anchura de haz son habituales en la vejiga urinaria y la vesícula biliar (Goldstein y Madrazo, 1981), donde imitan la presencia de residuo o sedimento (Fiske y Filly, 1982). Este artefacto se produce cuando parte del espesor del haz de ultrasonidos se encuentra fuera de una estructura de contenido anecogénico. Los ecos que se originan a partir de esta parte del haz son representados erróneamente dentro de esta estructura en la imagen (Kremkau y Taylor, 1986), pero desaparecen cuando toda la amplitud del haz se sitúa dentro de la estructura. Existen diferentes formas de diferenciar este artefacto del sedimento real. El sedimento verdadero normalmente tiene una interfase plana, mientras que la superficie del falso sedimento es curva. Cambiando la posición del animal cambiará la localización del sedimento hacia la porción declive de la vejiga o la vesícula biliar. La interfase del falso sedimento permanece perpendicular al haz incidente, mientras que la interfase del sedimento real cambia con la posición (Fiske y Filly, 1982). Además, el espesor falso puede reducirse utilizando transductores de frecuencia superior y centrando la imagen dentro de la zona focal (Penninck, 2002).

- **Refracción.** La refracción del haz de ultrasonidos se produce cuando la onda de sonido cambia de velocidad al incidir tangencialmente tejidos con diferente impedancia acústica. La onda sonora transmitida al segundo medio cambia de dirección, lo que provoca que una estructura sea representada en una localización inadecuada. El artefacto de refracción en ocasiones produce una doble imagen, lo que puede conducir a errores de diagnóstico o de medición (Penninck, 2002; Drost, 2007). No obstante, si bien en humanos se han descrito numerosos artefactos de refracción, como los artefactos fantasma o artefactos de doble imagen y la duplicación de órganos (Buttery y Davison, 1984;

Muller *et al.*, 1984; Middleton y Melson, 1989; Vandeman *et al.*, 1990), esto no ocurre frecuentemente en animales (Drost, 2007).

La refracción del haz de ultrasonidos origina **sombras laterales** en los bordes de estructuras redondeadas llenas de líquido. Esto se ha explicado por la baja velocidad acústica a través de estas estructuras, causando la refracción del haz ultrasónico en la interfase fluido-líquido (Sommer *et al.*, 1979). Este artefacto suele producirse al visualizar la vesícula biliar, la vejiga urinaria o los riñones, e incluso en la unión entre la médula y el divertículo renal (Penninck, 2002; Drost, 2007). Se han realizado diversos estudios para comprender mejor el comportamiento aparentemente confuso de un haz incidente en una interfase esférica en la que se modifica la velocidad de propagación del ultrasonido. Al incidir el haz sobre una región de mayor velocidad de transmisión, el haz reflejado es divergente debido a la forma de la interfase reflectora, y el haz refractado también es divergente (desenfocado) debido a la variación de los ángulos de refracción del haz. En una región circular de menor velocidad, el haz reflejado sigue siendo divergente, mientras que el haz refractado es ahora convergente (enfocado) debido a la acción en lente de la región. Además de este comportamiento, se ha demostrado que los cambios en la amplitud de los ecos, causados por la acción focalizante y la atenuación diferencial entre el líquido del interior del quiste y el tejido circundante, también participan en la formación de la sombra lateral (Robinson *et al.*, 1981).

- **Sombra acústica.** La sombra acústica aparece como un área de baja ecogenicidad (área de hipoeecogénica a anecogénica) distal a estructuras altamente reflectantes. La sombra acústica se produce por la gran reflexión o absorción del haz principal de sonido en una interfase muy reflectante (Park *et al.*, 1981; Herring y Bjornton, 1985; Penninck, 2002; Drost, 2007). Este artefacto puede aparecer en las interfases tejido blando-gas (intestino, pulmón) o tejido blando-hueso, así como en situaciones patológicas. En el caso de la interfase tejido blando-gas, el 99% del sonido es reflejado, y la sombra resultante aparece “sucía”, no homogénea, debido a las múltiples reflexiones o reverberaciones. En el caso de la interfase tejido-blando-hueso, una porción significativa del haz de ultrasonidos es absorbida, por lo tanto, hay una total ausencia de reverberaciones y se crea una sombra “limpia”. Los cálculos urinarios y de la vesícula biliar tienden a comportarse como el hueso y producen una sombra acústica fuerte y limpia. La presencia de fosfato de bario, cuando es utilizado como medio de contraste en el tracto gastrointestinal, también provoca una sombra limpia por atenuación del sonido debido a la reflexión (Penninck, 2002). Sin embargo, el concepto de sombra acústica sucia y limpia dista de ser absoluto pues, en ocasiones, el gas produce una sombra marcada y limpia y, a la inversa, las estructuras mineralizadas pueden producir sombras sucias. Para generar la sombra acústica distal son críticos el tamaño, la localización relativa en la zona focal, la frecuencia del transductor y la composición de los cálculos. Los cálculos tienen que estar cerca de la zona focal del transductor y ser como mínimo tan anchos como el haz incidente para crear una sombra acústica

evidente (Sommer y Taylor, 1980). Si el cálculo se encuentra situado en una parte ancha del haz enfocado, no hay suficiente atenuación del haz y no hay una sombra aparente (Kirberger, 1995). Las características de la sombra parecen independientes de la composición interna de la estructura pero dependen en gran medida de las propiedades de la superficie reflejante (Rubin *et al.*, 1991).

- **Refuerzo posterior.** El refuerzo posterior representa un incremento localizado de la amplitud del eco que se produce distalmente a una estructura de baja atenuación. Aparece como un área de brillo aumentado y se observa distalmente a estructuras tales como la vesícula biliar o la vejiga urinaria. Este artefacto es característico de las lesiones quísticas y nos ayuda a diferenciarlos de las masas sólidas hipoeecogénicas (Penninck, 2002).

3.3.6. ECOGRAFÍA DOPPLER DÚPLEX

La ecografía Doppler dúplex combina el uso simultáneo de la ecografía en tiempo real bidimensional en escala de grises con la ecografía Doppler pulsado o continuo. Esta combinación permite al ecografista obtener información anatómica con la imagen en tiempo real e información funcional respecto al flujo sanguíneo con el estudio Doppler.

La ecografía Doppler permite identificar estructuras por la presencia o ausencia de flujo, como por ejemplo conductos biliares dilatados en oposición a venas portales en el hígado. También se utiliza para determinar la presencia de flujo cuando se sospecha de trombosis, para establecer la dirección del flujo o para demostrar alteraciones del flujo asociadas a la enfermedad. El flujo sanguíneo puede estimarse multiplicando la velocidad obtenida con la ecografía Doppler por el área de sección transversal determinada con la imagen en dos dimensiones (Kremkau, 1995; Wells, 1999; Szatmári *et al.*, 2001; Nyland *et al.*, 2002a).

Los instrumentos del Doppler dúplex están disponibles en sondas sectoriales mecánicas y en sondas de alta resolución ("array"). Las sondas mecánicas tienen que detener el movimiento de los cristales para llevar a cabo la evaluación con el Doppler, por lo que la imagen en dos dimensiones se congela mientras se toma la muestra del Doppler. La imagen se actualiza a intervalos frecuentes seleccionados por el operador, pero no es posible visualizar simultáneamente la imagen y el estudio del Doppler. Por consiguiente, el movimiento del transductor o del animal durante la adquisición de los datos del Doppler requiere la recolocación de la ventana del Doppler en la localización deseada utilizando la imagen bidimensional.

Las sondas de alta resolución tienen la capacidad de obtener casi simultáneamente información de imagen y de flujo, debido al especial ajuste de fase de los pulsos. El pulso del Doppler se intercala entre los pulsos de imagen, por lo que es más fácil mantener el volumen de la muestra en la localización deseada mientras se obtienen los datos del Doppler.

La sensibilidad del Doppler mejora con las frecuencias altas, pero el aumento de la atenuación del ultrasonido limita la profundidad de penetración. Por ello, del mismo modo que en la ecografía convencional, tendría que utilizarse la mayor frecuencia que alcance la profundidad requerida (Nyland *et al.*, 2002a).

3.3.6.1. PRINCIPIOS FÍSICOS DEL DOPPLER

En ecografía, el efecto Doppler es el resultado de un cambio aparente en la frecuencia del sonido que se produce cuando las ondas de sonido son reflejadas desde focos de emisión en movimiento, normalmente células sanguíneas. Así, si la fuente emisora y el receptor están estacionarios, las ondas viajan desde la fuente al receptor a la velocidad del ultrasonido y el número de ciclos de onda detectados por el receptor es el mismo que el número de ciclos transmitidos por la fuente (figura 21A). Si el movimiento se dirige hacia el transductor, es obvio que el receptor encuentra más ciclos de onda para un período fijo de tiempo de los que hubiera encontrado si hubiera permanecido estacionario, y así la onda recibida tiene una frecuencia mayor que la de la fuente (figura 21B). Si el movimiento se aleja del transductor, se detectarán menos ciclos de onda para un período fijo de tiempo de los que se hubieran detectado en caso de ser un receptor estacionario, por lo que la frecuencia recibida es menor (figura 21C) (Wells, 1999).

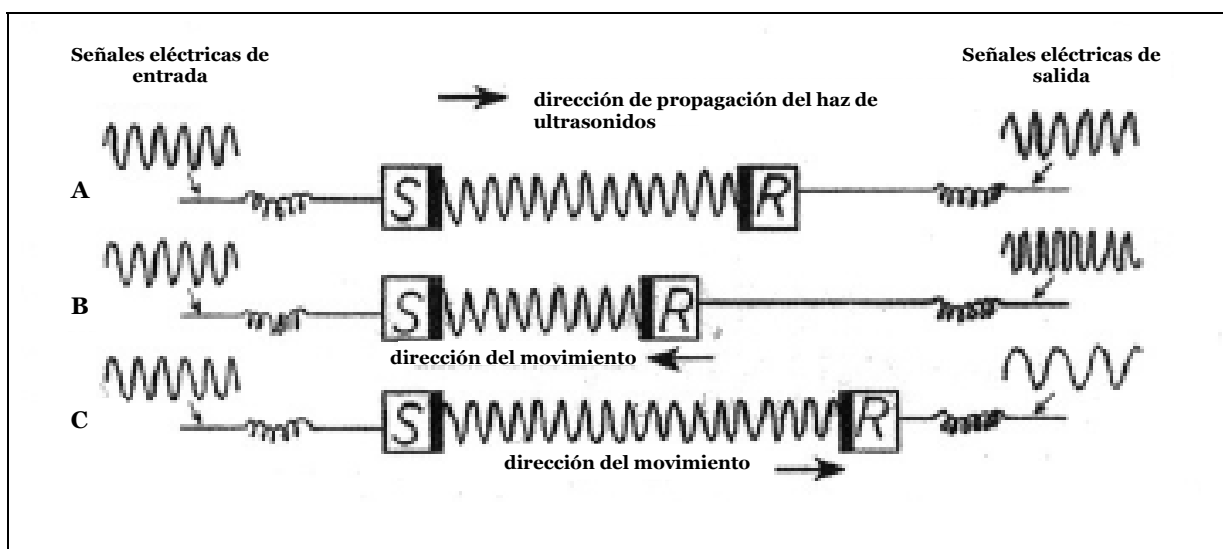


Figura 21: Efecto Doppler producido por un receptor en movimiento (Wells, 1999)

La diferencia entre las frecuencias transmitidas y reflejadas se conoce como diferencia Doppler o cambio Doppler. Cuanto mayor es el cambio Doppler, mayor es la velocidad. Sin embargo, el cambio Doppler no será tan grande si el haz transmitido no es paralelo al flujo sanguíneo. Se tiene que aplicar

un factor de corrección que tiene en cuenta el ángulo de incidencia del haz transmitido. La ecuación Doppler describe esta relación:

$$f = 2Fv \cos(a)/c$$

donde, f (Hz) es la frecuencia del cambio Doppler, F (Hz) es la frecuencia original del sonido transmitido, v (m/s) es la velocidad del foco de emisión en movimiento, a es el ángulo entre el haz incidente y la dirección de movimiento del foco de emisión, y c es la velocidad del sonido en el cuerpo (1540 m/s para el tejido blando). La ecuación normalmente se ordena de la siguiente manera para obtener la velocidad:

$$v = fc/2F\cos(a)$$

A medida que el haz incidente se vuelve paralelo a la dirección del flujo sanguíneo (el ángulo de incidencia se aproxima a cero y el $\cos(a)$ se aproxima a 1), se produce un cambio máximo de frecuencia y el ángulo tiene un efecto mínimo en los cálculos resultantes.

El objetivo de la evaluación con Doppler es orientar el haz incidente tan paralelamente al flujo como sea posible para evitar errores en el cálculo asociados a ángulos de incidencia grandes. Esto es posible en la evaluación del flujo en el corazón y en los grandes vasos pero difícil en la evaluación del flujo en los vasos periféricos que discurren casi paralelamente a la superficie cutánea. Se desea un ángulo de incidencia de menos de 60 grados, pero a menudo es difícil conseguirlo. Cambios pequeños en el ángulo de incidencia por encima de los 60 grados producen cambios significativos en la velocidad calculada.

El hecho más importante en el estudio Doppler es que la frecuencia de los ecos que retornan se compara con la frecuencia original del sonido transmitido. La diferencia se encuentra normalmente en el rango de los kilohercios y es audible cuando se envía al altavoz de la unidad Doppler. La información también se muestra visualmente en el monitor como una representación espectral del Doppler compuesta por la diferencia de frecuencia (kHz) o la velocidad (cm/s) en el eje vertical y el tiempo en el eje horizontal. En medicina veterinaria se utilizan generalmente dos tipos de ecografía Doppler, el pulsado y el de onda continua. La ecografía con Doppler pulsado posee discriminación de profundidad, mientras que el Doppler de onda continua no (Nyland *et al.*, 2002a).

3.3.6.1.1. ECOGRAFÍA DOPPLER DE ONDA PULSADA

Con la ecografía Doppler de onda pulsada, el sonido es transmitido en pulsos, igual que en la imagen en tiempo real. Los rangos de los objetos pueden ser estimados partiendo de los retrasos correspondientes en la recepción de ecos que siguen a la transmisión de un pulso ultrasónico (Wells, 1999). Así, los ecos que se originan en la sangre en movimiento llegan al transductor en un intervalo de tiempo diferente según la profundidad del vaso. Si los ecos de este intervalo son los únicos aceptados y procesados, se puede determinar la diferencia de frecuencia entre el sonido transmitido y el reflejado desde un vaso sanguíneo concreto. Este proceso se conoce como rango de ventana, en el cual la ventana se abre o se cierra para aceptar sólo ecos de una profundidad concreta. La superposición de la localización de la profundidad de la ventana (profundidad) y el tamaño de la misma (volumen de la muestra) en la representación en dos dimensiones, en forma de un cursor rectangular móvil, hace posible un estudio preciso de la región de interés. Mediante un cursor controlado de forma manual es posible alinearse paralelamente a la dirección del flujo sanguíneo, con lo que permite determinar el ángulo de incidencia del haz transmitido en la dirección del flujo. El transductor utilizado para la ecografía de Doppler pulsado es el mismo que se utiliza en la imagen en tiempo real. Cuando el Doppler está funcionando, se representa en la pantalla una imagen congelada o que se actualiza periódicamente si utilizamos sondas sectoriales mecánicas. La imagen en tiempo real y la evaluación con el Doppler pulsado pueden obtenerse simultáneamente con los nuevos tipos de sondas electrónicas de alta resolución (Nyland *et al.*, 2002a).

3.3.6.1.2. ECOGRAFÍA DOPPLER DE ONDA CONTINUA

La ecografía Doppler de onda continua también se utiliza para determinar el flujo sanguíneo, pero utiliza un transductor especial con dos cristales que no puede producir una imagen en dos dimensiones. El sonido es transmitido y recibido continuamente mediante el uso de cristales distintos de transmisión y de recepción (Wells, 1999; Nyland *et al.*, 2002a). La trayectoria exacta del haz se determina a ciegas, como en la ecocardiografía en modo M, debido a las características de la recepción espectral del Doppler. La ecografía Doppler de onda continua no puede distinguir la profundidad, por lo que en la imagen se muestra cualquier movimiento en el trayecto del haz. Sin embargo, sí puede determinar la dirección del flujo y medir velocidades de flujo mayores que con la ecografía de Doppler pulsado, ya que el muestreo es continuo. La ecografía Doppler de onda continua es fundamental para registrar altas velocidades distales a lesiones estenóticas. No obstante, debemos tener en cuenta que el haz del Doppler debe abarcar únicamente un vaso o una cámara cardíaca porque cualquier flujo sanguíneo dentro del haz será registrado, independientemente de la profundidad (Nyland *et al.*, 2002a).

3.3.6.2. INTERPRETACIÓN DE LA REPRESENTACIÓN ESPECTRAL DEL DOPPLER

Los resultados de un estudio Doppler se presentan y registran generalmente en forma de diagramas espectrales, sin embargo, la señal Doppler real es un sonido y los datos representados por los diagramas espectrales no son más que una caracterización, necesariamente aproximada, de la señal Doppler completa (Burns, 1999a). La representación espectral del Doppler aporta información del flujo en función del tiempo. El tiempo se sitúa normalmente en el eje horizontal, y el cambio de frecuencia o la velocidad en el eje vertical (figura 22).

La línea base horizontal en el trazo espectral del Doppler indica el punto cero de diferencia de frecuencia entre los ecos emitidos y los ecos que regresan, es decir, sin flujos (Nyland *et al.*, 2002a). Aunque el movimiento de cada blanco da lugar a un cambio de señal Doppler de una frecuencia cuyo grado es proporcional a la velocidad del mismo, el volumen de muestra de una señal de Doppler pulsado generalmente origina la insonación de células sanguíneas que se mueven a un gran número de velocidades diferentes, algunas veces incluso en direcciones opuestas dentro del mismo vaso. La señal Doppler, por tanto, es percibida por el operador como un grupo complejo y cambiante de sonidos. La aplicación con éxito de estas técnicas cuantitativas con fines clínicos se basa, en gran parte, en la elección apropiada de los procesados y mediciones posteriores que se hacen sobre esta señal. Para este fin están disponibles una gran variedad de métodos de procesamiento de señal, la mayoría de los cuales están incorporados actualmente de forma rutinaria en los equipos.

Debido a que la base de la información contenida dentro de la señal radica en la combinación de diferentes cambios de frecuencia Doppler, es natural que el instrumento fundamental del procesamiento de las señales Doppler sea el analizador de frecuencia o espectro. Este instrumento es capaz de determinar las potencias relativas de los diversos componentes de frecuencia que están presentes en la señal en un momento dado. Los procesadores aritméticos utilizados son capaces de realizar los cálculos necesarios a gran velocidad para poder analizar el siguiente período cuando éste llega, produciendo así una serie de espectros en tiempo real. Estos espectros son simplemente gráficos, que se representan como un sonograma, y que muestran la amplitud relativa de cada uno de los componentes de frecuencia que constituyen la señal Doppler (Burns, 1999a). Así, cuando el flujo se dirige hacia el transductor y, por tanto, la frecuencia de los ecos que regresan es mayor que la frecuencia transmitida, el trazo espectral se sitúa por encima de la línea base cero. Por el contrario, el flujo se aleja del transductor si el trazo se localiza por debajo de la línea base, ya que la frecuencia que regresa es menor que la frecuencia transmitida. La amplitud del espectro del Doppler en cualquier punto indica el rango de frecuencias presentes en ese tiempo. Si existe un gran número de frecuencias diferentes en un punto concreto la amplitud aumenta y este fenómeno se denomina ampliación

espectral. El brillo o escala de grises también se utiliza para representar la amplitud de cada componente de la frecuencia (Burns, 1999a).

Los ecógrafos también poseen la capacidad de calcular automáticamente el cambio de frecuencia media o la velocidad media. El flujo medio puede calcularse multiplicando la velocidad media por el área de sección transversal del vaso. El diámetro del vaso y la velocidad de la sangre pueden cambiar durante el ciclo cardíaco o con la respiración, lo que se refleja en el trazo espectral. El diámetro medio del vaso y la velocidad media se utilizan para obtener medidas fiables del flujo sanguíneo medio (Nyland *et al.*, 2002a).

Hay que tener en cuenta que la sangre fluye normalmente a mayor velocidad en el centro de la luz del vaso y más lentamente cerca de sus paredes. Así, el perfil del flujo es diferente en las arterias y en las venas y varía con el tamaño y la localización del vaso. Las arterias más grandes pueden tener un perfil de flujo cilíndrico (figura 23A), mientras que los vasos más pequeños tienen un flujo parabólico romo (figura 23B) o parabólico (figura 23C). Por lo que, como ya hemos comentado, si se muestrea la luz entera del vaso regresa un espectro de cambio de frecuencias (Burns, 1999b; Nyland *et al.*, 2002a).

Si el volumen de la muestra abarca toda la luz del vaso, se obtiene un espectro de frecuencias de regreso que representa todas las velocidades presentes en la luz (figura 22). Las frecuencias que regresan son comparadas con las frecuencias transmitidas y representadas como cambios de frecuencia o velocidad en el eje vertical, frente al tiempo en el eje horizontal. La amplitud del trazo indica el rango de velocidades presente dentro del volumen de la muestra y la escala de grises, en cualquier porción del trazo, representa el número relativo de células que viajan a esa velocidad concreta. Generalmente el trazo es representado como blanco sobre negro, de manera que las áreas más blancas del trazo corresponden a un mayor número de eritrocitos.

El cambio medio de velocidad es calculado automáticamente en la mayoría de unidades de ecografía Doppler. El aumento de amplitud del trazo espectral se observa en enfermedades como la estenosis valvular, la regurgitación o las comunicaciones cardíacas, ya que la turbulencia causa un rango mayor de velocidades. La estenosis de los vasos está asociada a grandes cambios de frecuencia en los puntos de máxima estrechez, tanto en la sístole como en la diástole y en las regiones postestenóticas se observa un flujo turbulento. El análisis de estos cambios permite predecir el grado de estenosis del vaso. También se puede estimar la resistencia al flujo en el lecho vascular distal al punto de medida. Las resistencias aumentadas reducen el flujo diastólico. Los índices del Doppler como la relación sistólico-diastólica, índice de resistencia (IR) y el índice de pulsatilidad (IP) permiten comparar el flujo en sístole y en diástole. Estos índices se utilizan para ayudar a evaluar estenosis, trombosis o, más frecuentemente, el aumento de resistencia en flujos periféricos (Nyland *et al.*, 2002a).

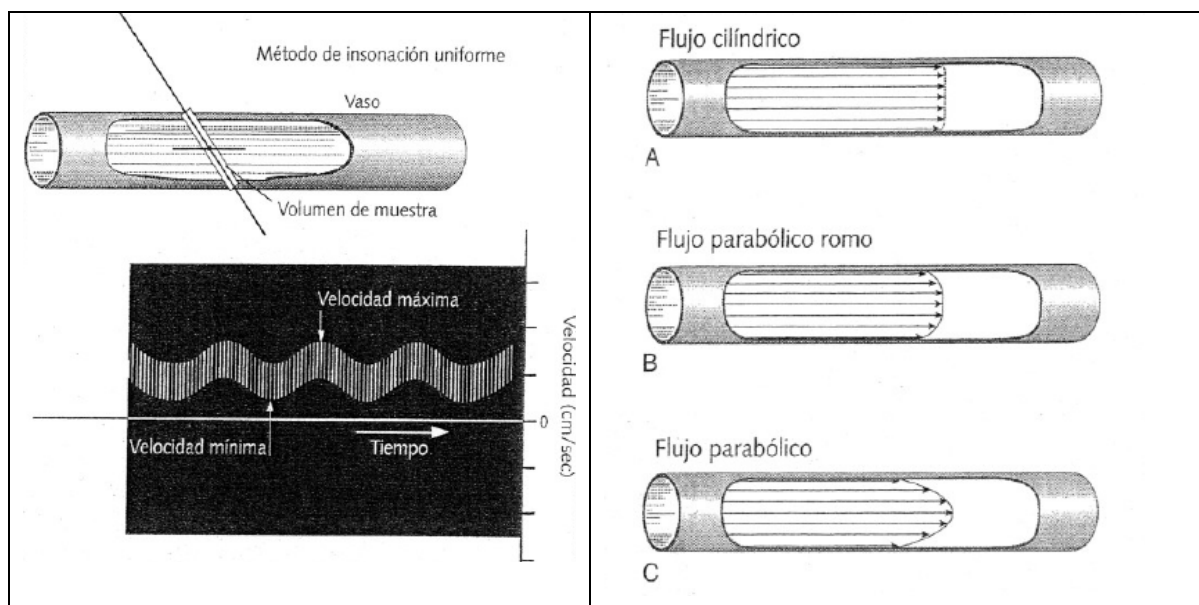


Figura 22: Representación espectral del Doppler (Nyland *et al.*, 2002a)

Figura 23: Perfiles de velocidad del flujo sanguíneo (Nyland *et al.*, 2002a)

3.3.6.2.1. FLUJO DE DOPPLER COLOR

Las unidades modernas de Doppler con sondas de alta resolución pueden codificar en color las mediciones de la velocidad de la sangre sobre una amplia área de campo y superponer esta información a la imagen bidimensional en tiempo real (Merritt, 1987). Las señales de los eritrocitos en movimiento son representadas con diferente color en función de si se dirigen hacia el transductor o se alejan de él. El grado de saturación del color también indica la velocidad relativa de las células (Foley y Ericsson, 1991; Farrow, 1996; Nyland *et al.*, 2002a). Aunque puede ser tentador ver las imágenes de Doppler color como dibujos de la luz vascular, en analogía con un angiograma, o como mapas de flujo o velocidad, en realidad no son ninguna de estas dos cosas. El color de estas imágenes codifica un parámetro Doppler estimado, relacionado con el cambio medio de frecuencia Doppler que se detecta en cada elemento de área (o píxel) de la imagen y se superpone a la imagen en escala de grises convencional. La información contenida en estas imágenes, presentada al operador en tiempo real, es una combinación de datos anatómicos y de flujo. En la práctica lo que muestra el color es una representación visual de los mismos datos que se obtienen con mayor detalle en una exploración dúplex. Su aportación más clara es el conocimiento rápido y cualitativo de los cambios Doppler en la imagen, más que la medida cuantitativa (Burns, 1999a).

Las imágenes de flujo en Doppler color presentan dos grandes desventajas con respecto al Doppler convencional: sólo se representa la velocidad media de un área particular y la velocidad máxima detectable es limitada. La exploración del flujo en color con el Doppler se emplea sobre todo

para detectar alteraciones del flujo que podrían no ser detectadas por las técnicas de muestreo concretas y de pequeño volumen del Doppler convencional. Afortunadamente, todas las unidades de Doppler color también son capaces de realizar análisis espectral convencional Doppler en un rango de ventana. Por lo tanto, se pueden obtener y cuantificar datos más precisos de estas áreas que utilizando las técnicas de Doppler estándar (Zwiebel, 1990; Nyland *et al.*, 2002a).

3.3.7. REALIZACIÓN DE LA ECOGRÁFICA ABDOMINAL EN EL PERRO

La realización del examen abdominal requiere un elevado nivel de destreza manual y de coordinación entre la mano y el ojo, así como un profundo conocimiento de la anatomía, la fisiología y de la capacidad y de las limitaciones del equipo (Nyland *et al.*, 2002a).

Durante la realización de una ecografía abdominal las imágenes deben ser interpretadas tan pronto como son adquiridas y guardar las copias para documentar el examen y no para ser interpretadas a la conclusión del mismo (Burk y Feeney, 2003). Es muy importante adquirir un método minucioso y sistemático, lo que posibilita una identificación precisa de todos los órganos y sistemas, y un examen muy eficiente (Nyland *et al.*, 2002a). Hay que tener en cuenta que el examen ecográfico de determinados órganos y regiones anatómicas requiere la evaluación en distintos ángulos y direcciones (Burk y Feeney, 2003).

Siempre que sea posible, las ecografías debemos realizarlas en un espacio destinado exclusivamente a este fin, para así disminuir influencias externas. La temperatura no debe ser elevada, porque el jadeo dificulta el estudio ecográfico. Para mantener al animal cómodo sobre la mesa se recomienda la utilización de una colchoneta. Por norma general es suficiente una persona para mantener al paciente en la posición deseada, que puede ser el propietario (Fritsch y Gerwing, 1996).

La posición del paciente a la hora de realizar una ecografía varía en función del examen que se vaya a realizar y de las preferencias y destreza del operador (Burk y Feeney, 2003). La mayoría de las ecografías abdominales se hacen con el animal en decúbito supino o ligeramente rotado lateralmente. En pocos casos utilizamos el decúbito lateral completo (Fritsch y Gerwing, 1996; Burk y Feeney, 2003). El examen abdominal con el paciente de pie es útil si el perro es grande, cuando existe una marcada efusión abdominal o para valorar varios órganos en ciertas circunstancias (Mattoon *et al.*, 2002).

3.3.7.1. PREPARACIÓN DEL PACIENTE

Para la mayoría de los estudios ecográficos no es necesaria una preparación específica. La única recomendación básica es que el animal esté en ayunas (para evitar superposición de alimentos o de gas) y con la vejiga llena. Las superposiciones producidas por la presencia de heces es posible

evitarlas administrando un enema unas horas antes de la exploración. La vejiga y la próstata hay que valorarlas ecográficamente antes de utilizar laxantes rectales, porque muchos animales emiten heces y orina de forma conjunta. Si la vejiga no está suficientemente llena, se debe distender dando de beber al animal o forzando la diuresis, siempre que no existan contraindicaciones clínicas para ello (Fritsch y Gerwing, 1996).

El examen ecográfico abdominal requiere normalmente un rasurado del pelo en la zona ventral y lateral del abdomen, que abarca desde el arco costal craneal hasta la región inguinal (Homco, 1996; Mattoon *et al.*, 2002). El pelo influye sobre la calidad de la imagen según su grosor, longitud y espesor. Especialmente desfavorables son los perros de pelo corto y duro (por ejemplo Beagle, Rottweiler, Bóxer,...), y no tanto los animales de pelo sedoso (por ejemplo Yorkshire, Maltés, Caniche, Teckel,...); en estos últimos, según la topografía y la longitud del pelo, es posible evitar el rasurado. Esto se puede hacer principalmente en la región inguinal, pero resulta más difícil caudalmente al arco costal y a nivel del tórax, donde hay un mayor espesor de pelo. En perros de pelo largo podemos, en ocasiones, apartar el pelo y conseguir así una pequeña ventana de acceso. Esto solamente lo realizaremos en animales que requieren un estudio ecográfico de una zona muy concreta (Fritsch y Gerwing, 1996).

El gel acústico se aplica sobre la piel para conseguir un contacto acústico perfecto entre el transductor y el paciente. Este gel se extiende sobre todo el abdomen, ya sea con la mano o deslizando el transductor por el mismo (Mattoon *et al.*, 2002). A diferencia del agua, los geles de contacto se evaporan lentamente y permiten deslizar el transductor de forma indolora sobre la piel. Después de la exploración el gel puede ser eliminado fácilmente.

El alcohol, debido a su rápida evaporación, tiene un tiempo de acción muy corto, por lo que sólo ofrece una imagen aceptable durante pocos minutos, incluso después de repetir su aplicación. Además, produce irritación de la piel después del rasurado y el deterioro de la sonda.

El paciente se coloca en decúbito dorsal y un asistente lo sujeta suavemente de las extremidades anteriores y posteriores. El 90% de los perros o gatos es posible explorarlos sin sedación. En algunos casos es necesario utilizar un bozal o atar el hocico a los perros. Los animales muy nerviosos deben ser sedados (Fritsch y Gerwing, 1996). En este caso hay que evitar la morfina y sus derivados ya que el jadeo y la aerofagia que produce provocan que el tracto gastrointestinal se llene de aire, así como la xilacina, que produce atonía gástrica y acumulación rápida de aire (Mattoon *et al.*, 2002).

3.3.7.2. DINÁMICA DE EXPLORACIÓN

La ecografía abdominal debe iniciarse en el abdomen caudal por diversos motivos. La vejiga de la orina distendida es un órgano de fácil localización y a nivel del cual se ajustan muy bien los controles del ecógrafo. Los animales se tranquilizan antes si se comienza con una exploración no dolorosa. Al contrario que en el área caudal, en el abdomen craneal es preciso frecuentemente presionar con el transductor para valorar los riñones o el hígado, lo que puede resultar molesto o incluso doloroso para algunos animales. Por este motivo, estos órganos deben ser estudiados al final de la exploración (Fritsch y Gerwing, 1996). Sin embargo, a pesar de todo, muchos ecografistas examinan por orden el hígado, bazo, estómago, duodeno, páncreas, riñones, glándulas adrenales, vejiga de la orina, próstata y nódulos linfáticos sublumbares, seguido de un barrido del resto del tracto intestinal y de otros nódulos linfáticos, lo que demuestra la gran variabilidad de técnicas ecográficas.

Para realizar ecografías de estructuras superficiales o pacientes pequeños podemos utilizar una almohadilla de separación, que es un espaciador acústicamente inerte colocado entre el transductor y la superficie de la piel del paciente (Mattoon *et al.*, 2002).

3.3.8. TÉCNICA DE EXPLORACIÓN Y VALORACIÓN DE ÓRGANOS

3.3.8.1. BAZO

El examen ecográfico del bazo resulta clínicamente útil para determinar el tamaño, localización y presencia de alteraciones del parénquima cuando se sospecha de una condición patológica (Saunders *et al.*, 1992; Nyland y Hager, 1985; Nyland *et al.*, 2002b), sin embargo, en muchas ocasiones la imagen no es específica ya que determinadas lesiones tienen patrones ecográficos comunes (Loriot *et al.*, 1997).

A menudo, las enfermedades que afectan al bazo causan un aumento de su tamaño que puede detectarse por palpación abdominal, radiografía o ecografía (Nyland *et al.*, 2002b). Las principales ventajas de la ecografía respecto a otros métodos de diagnóstico por imagen son, principalmente, la capacidad de determinar si está presente una enfermedad focal o no focal del parénquima, diferenciar las lesiones cavitarias de las sólidas y el proporcionar una guía para la aspiración intralesional que nos permita, en ocasiones, obtener un diagnóstico definitivo. También es importante destacar su utilidad para la realización de evaluaciones seriadas en el tratamiento de lesiones previamente localizadas (Nyland y Hager, 1985; Wrigley, 1991). La ecografía es particularmente útil cuando hay presencia de líquido abdominal (Nyland *et al.*, 2002b).

3.3.8.1.1. ANATOMÍA NORMAL Y ASPECTO ECOGRÁFICO DEL BAZO

El bazo está situado en el abdomen craneal izquierdo y normalmente sigue la curvatura mayor del estómago. La posición exacta del bazo es muy variable, dependiendo tanto del grado de distensión gástrica como del tamaño de los demás órganos abdominales (Wood *et al.*, 1990). La cabeza (extremo dorsal) del bazo se localiza frecuentemente debajo de la caja torácica; el cuerpo y la cola (extremo ventral) se extienden a lo largo de la pared corporal izquierda o a través del abdomen ventral. El bazo se localiza ventral o lateralmente al riñón izquierdo (Nyland *et al.*, 2002b).

Hay que valorar la situación, el tamaño, la forma y el parénquima esplénico. La situación y extensión del bazo son determinadas mediante un seguimiento continuado del órgano en cortes longitudinales y transversales (Fritsch y Gerwing, 1996). El tamaño normal del bazo es variable y tiene que evaluarse subjetivamente, de manera similar a los métodos radiográficos (Nyland *et al.*, 2002b). Para detectar una esplenomegalia es necesario valorar el grosor esplénico cerca del hilio, así como su contorno (Fritsch y Gerwing, 1996).

La forma usual creciente o triangular del bazo también es variable, pero la cápsula es lisa y regular. Esta cápsula es marcadamente ecogénica cuando el haz incide perpendicularmente a ella, lo que permite determinar si una masa abdominal se origina en el bazo o si meramente está en contacto con él (Nyland *et al.*, 2002b).

El parénquima esplénico tiene un aspecto homogéneo, con una granulación fina, confiriendo al conjunto una ecogenicidad superior a la del hígado y casi idéntica a la de la próstata (Loriot *et al.*, 1997). Las comparaciones directas entre un bazo y un hígado normal son difíciles, sin embargo, cuando uno de los dos está aumentado de tamaño, las comparaciones de ecogenicidad son mucho más fáciles. Por el contrario, la ecogenicidad del riñón izquierdo y la del bazo son fáciles de comparar en la mayoría de los animales. Normalmente el bazo es mucho más ecogénico que la corteza del riñón izquierdo y, la ecogenicidad del parénquima del hígado suele ser intermedia entre el riñón y el bazo. Con todo, hay que señalar que los cambios sutiles de la ecogenicidad son difíciles de reconocer, por lo que el ecografista no puede fiarse únicamente de la ecogenicidad del bazo o de las comparaciones con otros órganos para hacer un diagnóstico (Homco, 1996; Nyland *et al.*, 2002b).

3.3.8.1.2. ALTERACIONES PATOLÓGICAS DEL BAZO

Dentro de las alteraciones del parénquima esplénico podemos distinguir las lesiones difusas y las focales o multifocales, siendo estas últimas más fáciles de detectar (Nyland *et al.*, 2002b).

3.3.8.1.2.1. LESIONES DIFUSAS DEL PARÉNQUIMA ESPLÉNICO

La alteración más frecuente es la esplenomegalia difusa, en la que existe un aumento del grosor del bazo y los bordes esplénicos aparecen redondeados (figura 24), en lugar de aparecer afilados (Fritsch y Gerwing, 1996). A nivel del hilio podemos observar el signo de “depresión” por aumento del grosor del parénquima en la zona de entrada de los vasos esplénicos (figura 25). Cuando el bazo está aumentado de tamaño se desplaza caudalmente y, a veces, está en contacto con la vejiga (Loriot *et al.*, 1997).

Los diagnósticos diferenciales de la esplenomegalia difusa son múltiples, y en muchos casos la ecografía no es útil para establecer un diagnóstico específico. Los anestésicos (simpaticolíticos), las infecciones, las enfermedades inmunomediadas, el linfoma, las leucemias, las neoplasias, el estasis vascular, la anemia hemolítica crónica, la torsión o las infecciones parasitarias (por ejemplo *Haemobartonella*, *Babesia* o *Ehrlichia*) pueden dar lugar a un aumento difuso del tamaño del bazo (Nyland *et al.*, 2002b). El parénquima puede presentar una ecogenicidad normal o disminuida. En esplenomegalias muy marcadas, la ecotextura puede ser mucho más gruesa de lo normal (Fritsch y Gerwing, 1996). En humanos, se han realizado estudios que intentan relacionar la ecogenicidad del parénquima esplénico con los cambios patológicos en las fases tempranas de la enfermedad. A menudo se ha encontrado un bazo aumentado con ecogenicidad disminuida en enfermedades malignas, tales como linfoma, neoplasia de células plasmáticas o congestión aguda, mientras que la esplenomegalia causada por congestión crónica, procesos inflamatorios crónicos o enfermedades mieloproliferativas crónicas tienden a producir una ecogenicidad superior a la normal (Taylor y Milan, 1976; Mittelstaedt y Partain, 1980). En humanos, también se ha descrito que la hematopoyesis extramedular, los procesos mieloproliferativos agudos y la actividad reticuloendotelial aumentada causan una ecogenicidad normal o reducida del bazo (Mittelstaedt y Partain, 1980). Sin embargo, parece que existen muchas excepciones y contradicciones, y la ecogenicidad del bazo puede aparecer normal en diversos tipos de enfermedad esplénica difusa (Siler *et al.*, 1980). Probablemente lo mismo ocurre en los animales (Nyland *et al.*, 2002b). Por lo tanto, normalmente está indicado realizar una biopsia ecoguiada o una aspiración con aguja fina para establecer el diagnóstico (Osborne *et al.*, 1974; O’Keefe y Couto, 1987), si bien, esta última no es tan fiable como la biopsia ya que la muestra puede ser incompleta o insuficiente, impidiéndonos llegar a un diagnóstico certero (Ballegeer *et al.*, 2007).

En ocasiones se observan desituaciones del bazo o torsiones con dilatación de los vasos (Fritsch y Gerwing, 1996). La ecografía del bazo torsionado es muy característica. El espesor está muy aumentado, el parénquima esplénico ya no es homogéneo y se presenta globalmente hipoecogénico a causa de un estasis venoso muy importante. Las venas esplénicas no se observan claramente aumentadas al nivel del hilio por la obstrucción del flujo venoso de salida (Loriot *et al.*, 1997). Si el compromiso vascular es grave o prolongado, pueden producirse patrones asociados con un infarto,

necrosis o formación de abscesos. Puede encontrarse líquido abdominal libre adyacente al bazo. La evaluación con Doppler del bazo indica la ausencia de flujo sanguíneo y ayuda a diferenciar la torsión de otras causas de congestión esplénica (Nyland *et al.*, 2002b). En caso de torsión de estómago con desplazamiento del bazo, la presencia de gas hace la ecografía difícil y, en ocasiones, inútil (Loriot *et al.*, 1997).

Las enfermedades sistémicas agudas de origen bacteriano o fúngico pueden causar esplenomegalia secundaria con ecogenicidad normal o reducida. Las enfermedades infecciosas que afectan directamente al bazo suelen causar un aspecto similar, pero con esplenomegalia más pronunciada. En la inflamación aguda grave se ha descrito un patrón parenquimatoso marcadamente hipoecogénico o de encaje. También pueden aparecer los patrones típicos de trombosis, infartos o abscesos (Hardie *et al.*, 1995). La torsión esplénica y la esplenitis dan lugar a una esplenomegalia marcada, con un patrón similar reticulado e hipoecogénico del parénquima. Sin embargo, la presencia de los vasos dilatados en el parénquima esplénico y las venas hiliares aumentadas pueden ayudar a diferenciar la torsión de, al menos, algunos casos de necrosis esplénica secundaria a esplenitis o infarto, en los que las venas del parénquima no están dilatadas (Nyland *et al.*, 2002b).

La congestión pasiva del bazo que se produce por alteración de la circulación sistémica o portal y con algunos tipos de anemia hemolítica o en situaciones de toxemia, también suele cursar con esplenomegalia con ecogenicidad normal o ligeramente reducida (Nyland *et al.*, 2002b). La torsión esplénica parcial, la trombosis incompleta de la vena esplénica o la inflamación esplénica aguda pueden causar, inicialmente, congestión pasiva, que después puede progresar a una trombosis más general, infarto y necrosis del parénquima o formación de abscesos. La esplenomegalia marcada, con un patrón del parénquima rugoso, de encaje e hipoecogénico se ha descrito como un hallazgo frecuente en estas condiciones (Konde *et al.*, 1989; Hardie *et al.*, 1995). La congestión esplénica debida a estas causas puede diferenciarse de la que se aprecia en la torsión esplénica o en la trombosis grave gracias a la ecografía Doppler, evaluando el flujo sanguíneo dentro del bazo (Nyland *et al.*, 2002b).

El aumento del volumen del bazo también puede estar asociado a una alteración neoplásica, donde podemos observar un parénquima heterogéneo, más rugoso de lo normal (Loriot *et al.*, 1997). Las infiltraciones linfocíticas, histiocíticas malignas, mastocíticas, mieloides y leucémicas difusas pueden reducir la ecogenicidad del bazo, o el parénquima puede parecer normal. Se ha observado un incremento difuso de la ecogenicidad en el linfoma. Pueden encontrarse áreas hiperecogénicas, focales o multifocales, o nódulos asociados a estas enfermedades. El linfoma esplénico tiene una amplia variedad de aspectos y puede producir incrementos o disminuciones difusas de la ecogenicidad, un patrón de panel de abeja, un aspecto apolillado o lesiones hipoecogénicas focales, multifocales o complejas. La linfadenopatía del hilio esplénico o mesentérica, la linfadenopatía periférica generalizada o la afección de otros órganos abdominales como el hígado o el tracto gastrointestinal

puede sugerir la causa, sin embargo, para el diagnóstico definitivo se requiere una aspiración con aguja fina (Nyland *et al.*, 2002b).

Por otra parte, también es posible que la esplenomegalia generalizada se deba a una enfermedad no neoplásica difusa, como la hematopoyesis extramedular o, menos frecuentemente, la amiloidosis (Nyland *et al.*, 2002b; Couto, 2009). En estos casos el parénquima puede tener tanto una textura ecográfica normal como rugosa, con una ecogenicidad normal o reducida (Nyland *et al.*, 2002b).



Figura 24: Evidencia de bordes esplénicos redondeados indicativo de esplenomegalia

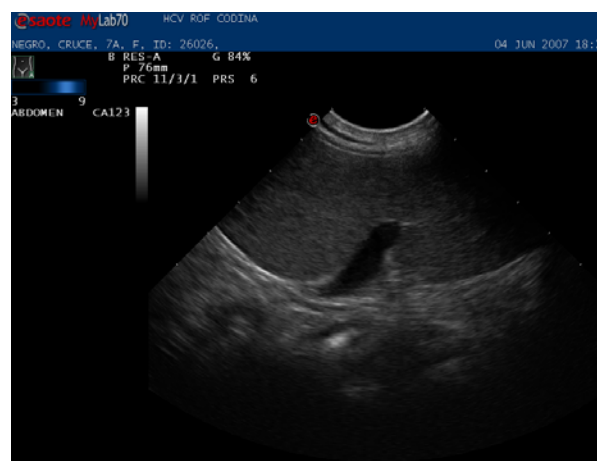


Figura 25: Presencia de signo de "depresión" en el hilio esplénico (aumento de grosor patológico del bazo en la zona de entrada de los vasos esplénicos) indicativo de esplenomegalia

3.3.8.1.2.2. LESIONES FOCALES DEL PARÉNQUIMA ESPLÉNICO

Las lesiones focales del bazo son detectadas fácilmente, pero el aspecto ecográfico normalmente no permite realizar un diagnóstico definitivo. Los hallazgos tienen que correlacionarse con la historia y los resultados de laboratorio. Los nódulos hiperplásicos, hematomas, abscesos, neoplasias primarias o metastáticas, necrosis por compromiso vascular, afecciones tóxicas, procesos inflamatorios o las afecciones neoplásicas pueden producir hallazgos ecográficos similares (Partington y Biller, 1996a; Nyland *et al.*, 2002b).

Las lesiones neoplásicas focales o multifocales del bazo normalmente son causadas por sarcomas, siendo el hemangiosarcoma y el linfoma los más frecuentes (Nyland y Hager, 1985; Wrigley *et al.*, 1988a; Wrigley *et al.*, 1988b). Las metástasis en el bazo son menos frecuentes que en el hígado, debido al aporte sanguíneo doble del hígado, pero sabemos que los carcinomas afectan al bazo después de invadir el torrente sanguíneo (Nyland *et al.*, 2002b). Las características ecográficas de las neoplasias no permiten establecer un diagnóstico definitivo (Fritsch y Gerwing, 1996). Son, con

frecuencia, lesiones mal definidas, anecoicas, hipoecogénicas o de aspecto complejo, parecidas a las del hígado (Nyland *et al.*, 2002b). Los hemangiosarcomas son, con diferencia, la causa más frecuente de alteración focal solitaria o múltiple del bazo (Partington y Biller, 1996a; Fritsch y Gerwing, 1996) y normalmente presentan áreas de anecogénicas a hiperecogénicas a lo largo de la lesión (Wrigley *et al.*, 1988b). Otras neoplasias malignas focales que podemos encontrar en el bazo son los leiomiosarcomas, fibrosarcomas, sarcomas anaplásicos, tumores de células plasmáticas y mastocitomas (Partington y Biller, 1996a).

Los abscesos esplénicos son muy infrecuentes y a menudo son secundarios a un traumatismo (Partington y Biller, 1996a; Fritsch y Gerwing, 1996). Su aspecto es muy variable, desde lesiones hipoecogénicas mal delimitadas, hasta lesiones complejas con componentes quísticos y sólidos (Dubbins, 1980). A veces pueden observarse puntos móviles hiperecogénicos en el interior de la lesión, que son burbujas de gas en el interior del absceso (Loriot *et al.*, 1997).

Entre las alteraciones benignas del bazo podemos encontrar hematomas y, con menor frecuencia, quistes e infartos focales (Fritsch y Gerwing, 1996). Los hematomas esplénicos son el resultado de un traumatismo abdominal o de alteraciones de la coagulación, aunque también pueden estar asociados a neoplasias esplénicas, como hemangiosarcomas o linfosarcomas (Hanson y Penninck, 1994). Su localización varía de intraparenquimatosa a subcapsular. El contorno del bazo puede estar alterado si la lesión es grande o próxima a la superficie (Nyland *et al.*, 2002b). Los quistes dan lugar a imágenes carentes de ecos. Las verdaderas formaciones quísticas son muy raras a nivel del bazo y la mayoría de las veces son quistes hemáticos procedentes de la reabsorción de hematomas, que presentan a menudo un aspecto tabicado (Loriot *et al.*, 1997). Los infartos esplénicos focales se producen secundariamente a embolismos o trombosis y suelen estar asociados a enfermedades inflamatorias como pancreatitis, endocarditis, septicemia o neoplasia en humanos (Jaroch *et al.*, 1986; Goerg y Schwerk, 1990). El infarto esplénico también se ha descrito en perros con endocarditis bacteriana, estados de hipercoagulabilidad secundarios a enfermedad hepática, enfermedad renal o hiperadrenocorticismismo, neoplasia o trombosis asociada a enfermedad cardiovascular (Ellison *et al.*, 1988; Hardie *et al.*, 1995). El aspecto de estos infartos es variable y depende del tiempo transcurrido desde que se produce la lesión (Nyland y Hager, 1985; Nyland *et al.*, 2002b).

3.3.8.2. HÍGADO

La ecografía se ha convertido en una herramienta de diagnóstico por imagen esencial para identificar anomalías del parénquima hepático, del tracto biliar y del sistema vascular. Incluso, en muchos casos, la ecografía ha reemplazado a la radiografía como procedimiento de imagen inicial en el estudio de enfermedades hepáticas. Sin embargo, los hallazgos ecográficos normales no descartan

enfermedad hepática, y los anormales pueden no ser patognomónicos (Lamb, 1991; Tiemessen, 1992; Partington y Biller, 1995; Nyland *et al.*, 2002c; Feeney *et al.*, 2008). Por lo que es difícil, o incluso imposible, establecer la naturaleza de las lesiones únicamente mediante examen ecográfico. Por ello, el examen clínico y la bioquímica deben formar parte de los sucesivos estudios para llegar a establecer un diagnóstico fiable (Vörös *et al.*, 1991).

Así, la ecografía permite confirmar la existencia de una lesión para cuyo diagnóstico específico es necesario el estudio de muestras citológicas o histológicas obtenidas por aspiración con aguja fina o mediante biopsia ecoguiada del hígado, siendo esta última mucho más fiable que la aspiración a la hora de ofrecer un diagnóstico definitivo (Lamb, 1991; Lorient *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2004).

El examen ecográfico del hígado está indicado en caso de sospecha o verificación de hepatomegalia (difusa o parcial), cuando exista una relación anómala de los órganos a nivel del abdomen craneal detectada por palpación o radiología, ante traumatismos abdominales graves, sospecha de comunicación portosistémica, hernia diafragmática, insuficiencia cardíaca o en casos de ictericia.

3.3.8.2.1. ANATOMÍA NORMAL Y ASPECTO ECOGRÁFICO DEL HÍGADO

La situación del hígado dentro del arco costal varía considerablemente dependiendo de la raza y de la conformación torácica del animal (Fritsch y Gerwing, 1996). El hígado está limitado cranealmente por el diafragma, ventralmente por la grasa falciforme y caudalmente por el riñón derecho, el estómago y el bazo (Nyland *et al.*, 2002c).

El hígado se desplaza siguiendo el ritmo respiratorio, y la polipnea, frecuente en el perro, dificulta a menudo su exploración (Lorient *et al.*, 1997). El tamaño y el contorno del hígado son los primeros datos que debemos considerar, pero al contrario que la radiología, la ecografía no es un método adecuado para determinar con precisión el tamaño hepático (Godshalk *et al.*, 1988; Fritsch y Gerwing, 1996). En el perro no puede observarse la totalidad del órgano en un solo corte, lo cual impide medir su longitud, y su espesor variará en función del ángulo de incidencia (Lorient *et al.*, 1997). Así, la determinación del tamaño del hígado se basa normalmente en la valoración subjetiva y deberán considerarse las diferencias de raza y conformación corporal (Nyland *et al.*, 2002c).

Sin embargo, la ecografía es útil a la hora de evaluar la superficie hepática, especialmente cuando existe ascitis o hidroperitoneo. En condiciones normales es lisa y regular. Los ecos producidos por la cápsula sólo son observados como una fina línea hiperecogénica en las áreas de contacto entre dos lóbulos (Fritsch y Gerwing, 1996).

El patrón ecográfico fisiológico del hígado es homogéneo, interrumpido solamente por el sistema vascular, venas hepáticas y portales, que pueden distinguirse mediante ecografía. La ecotextura del parénquima hepático es más gruesa que la del bazo y, la aparición de los vasos portales en todos los cortes del hígado, lo hacen fácilmente diferenciable de éste. Únicamente podemos determinar la ecogenicidad hepática comparándola con la de órganos de referencia (bazo, corteza renal, grasa falciforme). Así, el hígado es ligeramente hiperecogénico con respecto a la corteza renal, y ligeramente hipoecogénico con respecto al bazo. Con todo, hay que tener en cuenta que los cambios en la ecogenicidad deben ser substanciales para tener la seguridad de que uno o más de estos órganos son anormales (Fritsch y Gerwing, 1996; Partington y Biller, 1996b; Nyland *et al.*, 2002c).

La vesícula biliar se observa en la mayor parte de los cortes ecográficos hepáticos como una estructura anecoica de forma redondeada justo a la derecha de la línea media. Su tamaño varía en función de la ingesta. Una pequeña cantidad de sedimento ecogénico en el lumen puede considerarse normal mientras que cantidades mayores con estasis biliar pueden estar originadas por anorexia o ayuno (Nyland *et al.*, 2002c). Su pared es poco visible, pudiendo observarse como una delgada línea ecogénica entre la bilis anecoica y el parénquima hepático o no ser apreciable. El engrosamiento de la pared es un hallazgo no específico, pudiendo observarse en hepatitis aguda o crónica, colecistitis o colangiohepatitis (Nyland y Park 1983; Nyland y Hager, 1985; Nyland *et al.*, 2002c). Otras posibles causas, aunque menos frecuentes, pueden ser la hipoalbuminemia, fallo cardíaco derecho, sepsis o neoplasia (Nyland *et al.*, 2002c). El conducto cístico puede ser visible cuando la vesícula está llena, pero su diámetro es escaso (Loriot *et al.*, 1997).

3.3.8.2.2. ALTERACIONES PATOLÓGICAS DEL HÍGADO

Las alteraciones del parénquima hepático se clasifican generalmente en desórdenes focales y difusos. Si bien, el término difuso es un tanto impreciso debido a que la enfermedad multifocal puede ser tan extensa que haga que parezca difusa.

3.3.7.2.2.1. LESIONES DIFUSAS DEL PARÉNQUIMA HEPÁTICO

La evaluación ecográfica de la enfermedad hepática difusa ha sido revisada en el perro y la mayoría de los hallazgos son similares a los registrados en humanos (Biller *et al.*, 1992). La correlación con los hallazgos clínicos es importante para establecer un diagnóstico. La ecogenicidad del hígado debe compararse con la de otros órganos parenquimatosos. Normalmente su ecogenicidad es similar a la de la corteza del riñón derecho o ligeramente superior y es inferior a la del bazo. Aunque siempre debe considerarse la posibilidad de una combinación de alteraciones en hígado, riñón y bazo. Así, las comparaciones relativas de ecogenicidad pueden sugerir una anomalía en uno o más órganos, por

eso debe confirmarse mediante una exploración clínica o la realización de una biopsia (Nyland *et al.*, 2002c; Feeney *et al.*, 2008).

Las enfermedades hepáticas difusas pueden producir hipoecogenicidad del hígado, en la que el parénquima hepático aparece menos ecogénico que la corteza renal y los ecos periportales son más prominentes de lo usual (figura 27). Se ha descrito ecogenicidad hepática normal o disminuida en perros y gatos con procesos infiltrativos difusos tales como el linfoma, la leucemia o la amiloidosis (Nyland y Park, 1983; Nyland y Hager, 1985; Wrigley, 1985; Whiteley *et al.*, 1989; Lamb, 1990; Biller *et al.*, 1992; Nyland *et al.*, 2002c). La ecogenicidad del hígado con frecuencia es normal en casos de hepatitis aguda, pero puede estar disminuida con realce de los ecos periportales (Biller *et al.*, 1992). La congestión pasiva del hígado también puede ocasionar una ecogenicidad disminuida, acompañada por hepatomegalia e incremento venoso hepático, aunque esta observación a menudo indica una anormalidad cardíaca más que hepática (Nyland *et al.*, 2002c).

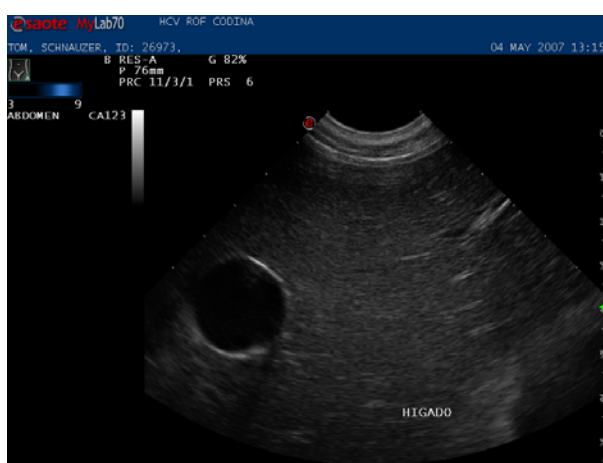


Figura 26: Imagen ecográfica compatible con un hígado normal

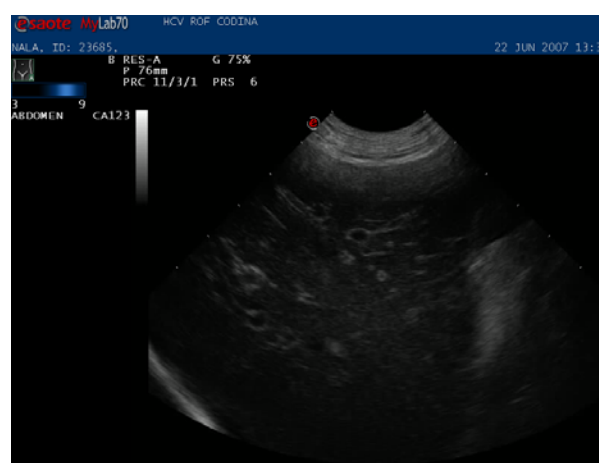


Figura 27: Imagen ecográfica que muestra un hígado hipoecogénico, con realce de los ecos periportales

Está comprobado el aumento uniforme de la ecogenicidad hepática asociado a infiltración grasa del hígado o lipidosis hepática (Yeager y Mohammed, 1992; Nicoll *et al.*, 1998), hepatopatía por esteroides (Biller *et al.*, 1992; O'Brien *et al.*, 1996; Lu *et al.*, 1997), hepatitis crónica (Gagne *et al.*, 1999), cirrosis (Biller *et al.*, 1992) y con menos frecuencia a linfoma (Whiteley *et al.*, 1989). Otras enfermedades que también pueden provocar un incremento de la ecogenicidad hepática son la diabetes mellitus, colangiohepatitis crónica y algunas hepatopatías tóxicas (Partington y Biller, 1996b). El tamaño del hígado normalmente está aumentado en la esteatosis hepática, hepatopatía por esteroides y linfoma, mientras que en casos de hepatitis crónica o cirrosis podemos ver un

tamaño disminuido y, en algunas ocasiones, con márgenes irregulares, nódulos regenerativos y ascitis (Partington y Biller, 1996b; Lorient *et al.*, 1997; Nyland *et al.*, 2002c).

El compromiso neoplásico difuso del hígado produce normalmente una ecotextura ecográfica basta, con una ecogenicidad desigual en una porción del parénquima o en todo el hígado. Los bordes no son definidos y puede ser difícil determinar si las áreas más ecogénicas o menos ecogénicas o ambas son anormales. A veces, la neoplasia difusa no produce anormalidades del parénquima o éste puede ser uniformemente hipoeoico o hiperecoico. Normalmente hay hepatomegalia. Estos cambios deben ser reconocidos subjetivamente o mediante la comparación con la ecogenicidad del riñón derecho o del bazo, asumiendo que estos órganos están normales. De todos modos, es necesaria la realización de una biopsia hepática para diferenciar procesos inflamatorios difusos, tóxicos o neoplásicos porque la apariencia ecográfica del hígado puede ser normal o, si es anormal, idéntica en todas estas condiciones (Nyland *et al.*, 2002c).

3.3.8.2.2. LESIONES FOCALES DEL PARÉNQUIMA HEPÁTICO

La ecografía es una técnica muy útil para detectar anormalidades focales del hígado debido al fondo uniforme proporcionado por el parénquima hepático normal. Podemos observar también irregularidades en el contorno del hígado cuando hay masas periféricas que deforman la cápsula. Estas lesiones localizadas pueden ser quistes, hemorragias, hematomas, abscesos, necrosis (inflamatoria, tóxica o inmunomediada), hiperplasia nodular, granulomas, neoplasias primarias o metastásicas, y menos frecuentemente bilomas o infartos (Partington y Biller, 1996b; Nyland *et al.*, 2002c).

Los quistes hepáticos son detectados normalmente por casualidad y se caracterizan por tener paredes finas y bien definidas, ausencia de ecos internos, zonas periféricas reflectivas y refractivas y un fuerte refuerzo acústico distal (Nyland y Park, 1983). Pueden ser congénitos o adquiridos y solitarios o múltiples (Lorient *et al.*, 1997; Nyland *et al.*, 2002c).

Los bilomas o pseudoquistes biliares son muy poco frecuentes y se presentan como estructuras anecoicas, circulares y con una pared muy fina. Son colecciones encapsuladas de bilis, intra o extrahepáticas, que suelen aparecer de manera secundaria a un traumatismo (Berry *et al.*, 1992). Al igual que los quistes, generalmente no provocan signos clínicos, a no ser que sean de gran tamaño y compriman alguna estructura adyacente, y sólo podemos diferenciarlos de éstos mediante una aspiración con aguja fina (Partington y Biller, 1996b).

Los hematomas hepáticos pueden aparecer como consecuencia de traumatismos o punciones. No son diferenciables ecográficamente de los hemangiosarcomas, aunque la detección de lesiones focales múltiples en el hígado, asociadas a otras a nivel de bazo o riñón, por ejemplo, puede apoyar la sospecha de neoplasia (Fritsch y Gerwing, 1996). Los hematomas dan lugar a imágenes variables en

función del grado de evolución del coágulo sanguíneo (Loriot *et al.*, 1997). La hemorragia aguda del parénquima es ecogénica (Vanssonenberg *et al.*, 1983). Más tarde, el hematoma aparece anecoico o hipoecogénico, hasta que se produce la organización del coágulo, cuando el contenido se vuelve ecogénico (Nyland y Hager, 1985). Los márgenes son generalmente irregulares y están mal definidos.

Los abscesos hepáticos son relativamente poco frecuentes y el origen de los que aparecen de forma espontánea es desconocido (Nyland *et al.*, 2002c). Su aspecto ecográfico no es definitivo para el diagnóstico, ya que es muy similar al de los hematomas o al de las neoplasias (Fritsch y Gerwing, 1996; Loriot *et al.*, 1997). Al inicio de su formación, poseen una pared más o menos gruesa, irregular en su cara interna, que limita una cavidad heterogénea (Loriot *et al.*, 1997). Los abscesos hepáticos en el perro suelen ser únicos, tener una región central anecoica o hipoecoica con un margen hiperecogénico irregular y escasamente definido. El refuerzo acústico posterior puede aparecer si hay necrosis y licuefacción. Para su diagnóstico, además del estudio clínico y laboratorio, puede realizarse su punción y aspirado con aguja fina, ya que el riesgo de diseminación es muy bajo (Konde *et al.*, 1986a; Schwarz *et al.*, 1998).

Agentes químicos, víricos, tóxicos o inmunomediados pueden producir necrosis hepática. El patrón puede ser multifocal o difuso y es similar al de hepatitis, formación de absceso multifocal o neoplasia. La historia puede sugerir el agente responsable, pero es preciso realizar una biopsia para eliminar el diagnóstico de necrosis asociado a otras condiciones (Nyland *et al.*, 2002c).

La hiperplasia nodular tiene una apariencia variable y no puede diagnosticarse únicamente en base a la imagen ecográfica. Puede ocurrir hasta en un 70% de los perros viejos (Bergman, 1985). Estas lesiones benignas normalmente aparecen como nódulos hipoecoicos en el hígado, pero pueden mostrarse isoecoicos, moderadamente hiperecoicos o con ecogenicidad mixta (Lamb, 1990; Stowater *et al.*, 1990). Las hiperplasias nodulares suelen presentar imágenes similares a hematomas, abscesos, necrosis o neoplasias hepáticas primarias o metastásicas. En estos casos está indicada la biopsia hepática, pero la apariencia histológica puede ser no diagnóstica o difícil de distinguir de la del adenoma hepatocelular o de la del carcinoma hepatocelular bien diferenciado (Patnaik *et al.*, 1980).

Uno de los usos de diagnóstico y pronóstico más importante de la ecografía hepática es la detección de lesiones del parénquima compatibles con neoplasia hepática (Nyland *et al.*, 2002c), si bien su aspecto puede variar enormemente (Whiteley *et al.*, 1989; Partington y Biller, 1996). Los focos neoplásicos se caracterizan por ser hipoecogénicos o presentar una ecogenicidad mixta ya que raramente son hiperecogénicos (Fritsch y Gerwing, 1996). En los perros y en los gatos, los tumores hepáticos metastáticos son mucho más frecuentes que los tumores primarios. La diseminación hacia el hígado se produce a través de la arteria hepática, la vena porta o los vasos linfáticos, o bien por extensión directa a partir de los órganos adyacentes, como el estómago o el páncreas. Los tumores hepáticos primarios más frecuentes son el adenoma y el carcinoma hepatocelular, y aquellos de origen

mesenquimatoso que surgen a partir de los vasos sanguíneos, estructuras linfoides o tejido conectivo. Los tumores metastásicos son frecuentemente carcinomas que se originan en el estómago, intestino, páncreas o glándula mamaria; sarcomas del bazo o linfosarcomas (Nyland *et al.*, 2002c). Es posible la afectación difusa o focal del hígado tanto con tumores primarios como metastásicos (Nyland y Park, 1983; Nyland y Hager, 1985; Whiteley *et al.*, 1989; Lamb, 1990).

La apariencia de la neoplasia hepática es variable y las formas difusas de enfermedad son difíciles de detectar; sin embargo, el tipo celular puede obtenerse con aspiración ecoguiada o biopsia. Se acepta de forma general que la neoplasia metastásica no puede diferenciarse de la neoplasia primaria, ni puede averiguarse el tipo de tumor únicamente a partir de su apariencia ecográfica. Aún más, los diferentes tipos histológicos de tumores primarios o metastásicos pueden tener una apariencia muy similar. La neoplasia, por tanto, debe figurar en la lista de diagnósticos diferenciales en un animal viejo con lesiones focales o multifocales, pero el diagnóstico debe confirmarse con aspiración o biopsia en cuña o con sacabocados (Nyland *et al.*, 2002c).

3.3.8.2.3. EVALUACIÓN DOPPLER DEL HÍGADO

La ecografía Doppler del hígado se usa principalmente para evaluar la velocidad del flujo, la dirección del flujo y los patrones espectrales asociados con las venas hepáticas y portales. La velocidad del flujo se determina normalmente mediante el método de insonación uniforme en el cual se utiliza un gran volumen de muestra Doppler para solapar las paredes del vaso. El software del ecógrafo calcula automáticamente la velocidad media del flujo en la vena (Lamb y Mahoney, 1994). También puede utilizarse el método de la velocidad máxima para determinar la velocidad media de flujo, en el cual, se multiplica la velocidad máxima medida en el centro del lumen del vaso, mediante la utilización de una pequeña muestra Doppler, por un factor de 0,57 (Nyland y Fisher, 1991; Lamb y Mahoney, 1994). Idealmente, para obtener medidas fiables, deben utilizarse ángulos de incidencia inferiores a 60 grados para ambos métodos. Estas dos técnicas Doppler, si se utilizan adecuadamente, no muestran diferencias significativas de fiabilidad (Lamb y Mahoney, 1994).

3.3.8.2.3.1. EVALUACIÓN DOPPLER DE LA VENA CAVA CAUDAL Y LAS VENAS HEPÁTICAS

Los patrones Doppler espectrales de la vena cava caudal y de las venas hepáticas son complejos y dependen de cambios en la actividad cardíaca, la respiración y la presión intraabdominal. Así, las ondas de la vena cava caudal y la vena hepática deben obtenerse, siempre que sea posible, al final de la espiración normal en un animal tranquilo. La vena cava se visualiza mediante una aproximación ventral o intercostal derecha. Se localiza primero en una vista transversal ventral, hacia la derecha de la aorta, ligeramente dorsal, y hacia la derecha de la vena porta, mediante el uso de los

lóbulo caudado y derecho hepáticos como una ventana acústica. Las mediciones Doppler de la vena cava caudal en la región del hígado se obtienen con la vena cava orientada en la vista del eje largo y el transductor dirigido cranealmente para obtener un ángulo de incidencia inferior a 60 grados.

La onda pulsada Doppler normal de la vena cava caudal y de las venas hepáticas muestra una marcada variación en la dirección y velocidad del flujo debido a la actividad del atrio derecho. El flujo venoso hepático es retrógrado hacia el hígado durante la contracción del atrio derecho. Después de la contracción de éste, hay un flujo rápido de sangre desde las venas hepáticas y la vena cava caudal hacia el atrio derecho durante el llenado rápido de la aurícula. El flujo se hace más lento mientras el atrio derecho se va llenando y la velocidad empieza a volver hacia la línea basal. Cuando la válvula tricúspide se abre y el ventrículo derecho se llena, ocurre una segunda onda de flujo rápido de las venas hepáticas hacia el atrio derecho que es ligeramente más pequeña que la primera. El atrio derecho se contrae otra vez y el ciclo se repite.

La actividad respiratoria normal también afecta a la velocidad de flujo en las venas hepáticas y la vena cava caudal. Durante la inspiración, hay un flujo aumentado hacia el corazón debido a la presión intratorácica disminuida y presión abdominal aumentada. Estos efectos se revierten en la espiración. La contracción de los músculos abdominales frente a una glotis cerrada tras la inspiración, conocido como la maniobra de Valsalva, incrementa la presión intratorácica y hace que el flujo disminuya o se pare en la vena cava caudal. Esto puede ocurrir en animales al realizar un esfuerzo intenso o durante la vocalización (Nyland *et al.*, 2002c).

Pueden verse dilataciones de la vena cava caudal y de las venas hepáticas, hepatomegalia y ascitis secundarias a insuficiencia cardíaca derecha, derrame pericárdico con taponamiento cardíaco, pericarditis constrictiva, tumor del atrio derecho, enfermedad de la válvula tricúspide, síndrome de la vena cava caudal por dirofilariosis o a enfermedad miocárdica. En estos casos las velocidades de flujo sanguíneo pueden estar disminuidas en la vena cava caudal y en las venas hepáticas, y si existe una insuficiencia de la válvula tricúspide, puede haber un flujo inverso más fuerte de lo normal durante la sístole atrial (Jullien *et al.*, 1995; Munich *et al.*, 1996; Mehta *et al.*, 1999). La presencia de líquido abdominal con venas hepáticas de tamaño normal sugiere la posibilidad de un origen no cardíaco de la ascitis.

La trombosis o la presencia de masas también pueden obstruir y dilatar la vena cava caudal y las venas hepáticas, causando hepatomegalia y ascitis. El diagnóstico diferencial incluye neoplasia, estenosis, enfermedad hepática, traumatismo, infección sistémica y alteraciones hematológicas. Los trombos producen normalmente una ecogenicidad intraluminal aumentada, aunque si son recientes a veces son isoecoicos y difíciles de visualizar (Nyland *et al.*, 2002c). Las venas hepáticas dilatadas se visualizan mejor cerca del diafragma, en su entrada a la vena cava caudal (Nyland y Park, 1983; Nyland y Hager, 1985; Nyland *et al.*, 1989; Lamb, 1990; Lamb, 1991; Biller *et al.*, 1992).

En el síndrome de Budd-Chiari las venas hepáticas están obstruidas en el punto en el que entran a la vena cava caudal o en algún lugar próximo a ese punto, causando un cuadro clínico caracterizado por dolor abdominal, ascitis y hepatomegalia. Pueden observarse patrones de Doppler espectral de flujo turbulento, reducido, invertido o ausente en las venas hepáticas y en la vena cava caudal, dependiendo de la localización y extensión de la obstrucción. Estos cambios se ven mejor con técnicas de Doppler color, ya que los vasos hepáticos mayores se identificarán fácilmente, y podrá establecerse la dirección y la dinámica del flujo. Otro aspecto del estudio Doppler que puede contribuir al diagnóstico es el cambio en el perfil de onda de las venas suprahepáticas (Hosoki *et al.*, 1989; Cohn *et al.*, 1991; Bolondi *et al.*, 1999).

En ciertos tipos de derivaciones portocava pueden observarse evidencias de turbulencia y aumento del diámetro en el lugar donde el vaso de derivación entra en la vena cava caudal, entre la entrada de la vena renal derecha y las venas hepáticas cerca del diafragma o en una vena hepática. El flujo turbulento en la vena cava caudal se identifica mejor con la técnica de Doppler color (Lamb, 1996).

3.3.8.2.3.2. EVALUACIÓN DOPPLER DE LA VENA PORTA

La vena porta se visualiza mediante una aproximación ventral o intercostal derecha, por lo que puede verse entrando en el hígado a través del porta hepatis. Está ventral y ligeramente hacia la izquierda de la vena cava caudal. La relación de la aorta, la vena cava caudal y la vena porta es más fácil de reconocer en la vista transversal, sin embargo, las mediciones Doppler de la vena porta principal a nivel del porta hepatis se obtienen con la vena porta orientada en una vista de eje largo y el transductor dirigido cranealmente con un ángulo de incidencia inferior a 60 grados (Nyland *et al.*, 2002c).

La velocidad normal del flujo sanguíneo portal en la vena porta principal es casi uniforme con pequeñas ondulaciones en el patrón Doppler espectral. Estas pequeñas ondulaciones en la velocidad se piensa que son debidas al movimiento respiratorio del diafragma, aumentando la velocidad durante la espiración y disminuyendo durante la inspiración (Nyland y Fisher, 1990; Lamb y Mahoney, 1994). Se ha establecido la hipótesis de que el desplazamiento caudal del diafragma durante la inspiración comprime las venas hepáticas, lo cual provoca una reducción del flujo a través del hígado al sistema porta (Abu-Yousef, 1992).

El método de insonación uniforme es el preferido para la medición de la velocidad del flujo portal (Nyland y Fisher, 1990; Lamb y Mahoney, 1994). Si se utiliza la técnica de la velocidad máxima, debe emplearse un volumen de muestra igual o mayor al 50% del diámetro del vaso para evitar artefactos (Nyland y Fisher, 1990). Si el volumen de muestra es demasiado pequeño y se sitúa fuera del

centro del vaso durante la respiración se pueden producir falsas ondulaciones en el flujo. Inicialmente se registra un flujo rápido en el centro del vaso, seguido por un flujo lento cerca de la pared del vaso, lo que produce resultados erróneos (Lamb y Mahoney, 1994).

La velocidad media normal de flujo sanguíneo portal en la vena porta principal de perros normales sin tranquilizar, según distintos investigadores, es de $18 \pm 7,6$ cm/s (Nyland y Fisher, 1990), $14,7 \pm 2,5$ cm/s (Lamb y Mahoney, 1994) y $19,2 \pm 0,5$ cm/s (Mwanza *et al.*, 1998). Así, el rango normal es de aproximadamente 10 a 25 cm/s (Nyland *et al.*, 2002c). El flujo sanguíneo medio portal, según diferentes investigadores, es de 31 ± 9 ml/min/kg (Kantrowitz *et al.*, 1989; Nyland y Fisher, 1990), $40,9 \pm 13$ ml/min/kg (Lamb y Mahoney, 1994) y $33,9 \pm 1,2$ ml/min/kg (Mwanza *et al.*, 1998). El flujo sanguíneo medio portal se calcula multiplicando el área de sección transversal (cm²) de la vena porta por la velocidad del flujo sanguíneo portal media (cm/s) y dividiendo por el peso corporal (kg). Se considera como normal un rango de flujo sanguíneo portal de 20 a 40 ml/min/kg (Nyland *et al.*, 2002c). Hay que tener en cuenta que tras la ingesta aumenta el flujo sanguíneo portal (Engelking y Sawkat-Anwer, 1999), mientras que el ejercicio físico y una postura erguida pueden disminuirlo (Ohnishi *et al.*, 1985), no obstante, la magnitud y variabilidad de estos efectos aún son poco conocidos cuando se aplican a casos clínicos (Nyland *et al.*, 2002c).

El índice de congestión de la vena porta es una medida de la resistencia vascular y puede aumentar con la cirrosis hepática y con otras enfermedades hepáticas. Este índice se determina dividiendo el área en sección transversal de la vena porta (cm²) por la velocidad promedio del flujo sanguíneo (cm/s), siendo su valor para perros normales sin tranquilizar de aproximadamente $0,04 \pm 0,015$ cm x s (Nyland y Fisher, 1990).

Como ya hemos comentado, la congestión pasiva del hígado puede ser secundaria a la insuficiencia cardíaca derecha debido a una insuficiencia de la válvula tricúspide, a un derrame pericárdico con taponamiento cardíaco o a una pericarditis constrictiva. Esto resulta en una distensión y pulsatilidad aumentada de las venas hepáticas como ya se ha descrito. No obstante, las ondas Doppler que muestran una pulsatilidad prominente relacionada con el ciclo cardíaco, también pueden transmitirse a la vena porta (Loperfido *et al.*, 1993; Rengo *et al.*, 1998; Gorka y Gorka, 1999). El grado mínimo de pulsatilidad de la vena porta que permitiría el diagnóstico de insuficiencia cardíaca derecha no se ha establecido en humanos, pero la mayoría de los autores están de acuerdo en que cualquier evidencia de flujo invertido en la vena porta indica una disfunción cardíaca derecha grave (Loperfido *et al.*, 1993; Rengo *et al.*, 1998). Sin embargo, también se ha descrito que la pulsatilidad de la vena porta puede ocurrir en pacientes normales y cirróticos sin enfermedad cardíaca, por lo que otros mecanismos distintos a la transmisión trans-sinusoidal de las pulsaciones atriales deben contribuir también a la pulsatilidad de la vena porta (Wachsberg *et al.*, 1995; Gorka *et al.*, 1998).

Las anomalías vasculares portales consisten en derivaciones portosistémicas congénitas o adquiridas y, menos frecuentemente, malformaciones arteriovenosas. La visualización ecográfica de la derivación puede estar comprometida por la presencia de un hígado pequeño o de gas intestinal (Nyland *et al.*, 2002c).

Las derivaciones portocava pueden sospecharse cuando el hígado es pequeño y hay una visibilidad disminuida de las venas porta o se ve un vaso anómalo drenando en la vena cava caudal, a una vena hepática o a la vena ázigos (Wrigley *et al.*, 1983; Wrigley *et al.*, 1987; Lamb, 1996). Las derivaciones pueden ser congénitas o adquiridas, únicas o múltiples, intrahepáticas o extrahepáticas. Los perros jóvenes de raza pequeña a menudo tienen derivaciones extrahepáticas congénitas únicas, mientras que los perros jóvenes de razas grandes suelen tener derivaciones intrahepáticas congénitas. En el caso de los perros viejos es más probable que tengan derivaciones extrahepáticas adquiridas y múltiples secundarias a una enfermedad hepática crónica. El diagnóstico ecográfico de una derivación portosistémica intrahepática congénita es normalmente mucho más fácil que el de una derivación extrahepática, debido a la localización variable de estas últimas en el abdomen y a la posibilidad de que su exploración se vea dificultada por la presencia de gas intestinal. Las derivaciones extrahepáticas pueden conectar la vena porta a la vena cólica, esplénica, renal, ázigos o a otras venas además de a la vena cava caudal, lo cual hace difícil su diagnóstico (Nyland *et al.*, 2002c).

Varios autores han descrito y valorado las derivaciones portocava congénitas mediante ecografía Doppler (Holt *et al.*, 1995; Lamb, 1996; Lamb *et al.*, 1996; Lamb, 1998; Lamb y White, 1998). Aproximadamente el 70% de los perros con derivaciones portosistémicas congénitas presentan un aumento de la velocidad de flujo o patrones de flujo anormales en la vena porta comparado con perros normales. El flujo sanguíneo portal es relativamente uniforme y los patrones de flujo variables observados en la vena porta con derivaciones son debidos, presumiblemente, a influencias cardíacas y respiratorias normales transmitidas desde la vena cava caudal a través de la derivación hasta la vena porta. La turbulencia puede identificarse mediante ecografía Doppler con una ventana intercostal derecha, en el punto donde entra el vaso derivado en la vena cava caudal (Lamb, 1996). Debemos tener en cuenta que en condiciones postprandiales tiene lugar un aumento del flujo sanguíneo portal (Engelking y Sawkat-Anwer, 1999), y que no siempre se aprecia un flujo variable o turbulencia en la vena porta (Nyland *et al.*, 2002c). Además, los patrones de flujo variable pueden transmitirse hacia la vena porta en casos de congestión hepática pasiva, como ya hemos dicho anteriormente (Loperfido *et al.*, 1993; Rengo *et al.*, 1998; Gorka y Gorka, 1999). Por lo tanto, la historia, los hallazgos clínicos, los resultados laboratoriales y las técnicas de imagen deberían evaluarse conjuntamente con la ecografía Doppler para evitar errores diagnósticos (Nyland *et al.*, 2002c).

Se han descrito flujos sanguíneos portales y velocidades medias de flujo sanguíneo portal reducidas en perros con derivaciones portosistémicas adquiridas secundarias a cirrosis o fibrosis

hepática. La velocidad media en 10 perros con cirrosis hepática inducida experimentalmente fue marcadamente reducida (9,2 cm/s), al igual que el flujo sanguíneo portal (17,2 ml/min/kg), mientras que el diámetro de la vena porta permaneció sin cambios (Nyland y Fisher, 1990). El aumento de diámetro de la vena porta que acompaña a la cirrosis hepática en humanos, aparentemente no se produce en perros, quizás debido a la mayor capacidad de estos últimos para desarrollar derivaciones extrahepáticas periféricas (Nyland y Fisher, 1990; Mwanza *et al.*, 1998). El índice medio de congestión de la vena porta para perros con cirrosis hepática inducida experimentalmente fue de $0,06 \pm 0,018$ cm x s, mientras que en perros normales no sedados su valor es de aproximadamente $0,04 \pm 0,015$ cm x s. No obstante, ya que el tamaño de la vena porta parece no aumentar tras la cirrosis o fibrosis hepática, la medición Doppler de la velocidad media del flujo sanguíneo portal por si sola es probablemente adecuada para valorar los cambios de la vena porta inducidos por la enfermedad hepática crónica. Además, la medición de este parámetro es especialmente valiosa, ya que no se requiere la visualización directa de los vasos derivados para su obtención (Nyland y Fisher, 1990).

En ocasiones, el estudio Doppler también sirve para detectar obstrucciones de la vena porta, ya que ciertos trombos pueden aparecer hipoecoicos o completamente anecoicos, por lo que para su detección es necesario Doppler color o dúplex. El trombo aparecerá como un vacío de flujo localizado en el Doppler color de la vena porta, que puede tener una reducción dramática o ausencia completa de flujo (Nyland *et al.*, 2002c). Sin embargo, se han detectado velocidades de flujo sanguíneo portal normales en algunos casos de trombosis de la vena porta, posiblemente debido al flujo alrededor del trombo (Lamb *et al.*, 1996).

En animales, los tumores que afectan a la vena porta y que causan compresión u obstrucción, suelen originarse en el tracto gastrointestinal o a partir de tumores hepáticos primarios o metastásicos (Van Winkle y Bruce, 1993). Se debe sospechar de un trombo tumoral si se detecta flujo sanguíneo en el trombo con un estudio Doppler color. Si hay una obstrucción de la vena porta, la velocidad media del flujo sanguíneo en la vena porta principal está normalmente reducida debido a la oclusión y a la formación de derivaciones portosistémicas extrahepáticas secundarias (Lamb *et al.*, 1996).

3.3.8.2.3.3. EVALUACIÓN DOPPLER DE LAS ARTERIAS HEPÁTICAS

El flujo arterial hepático es similar al flujo arterial en otros órganos sólidos como el riñón, con una onda sistólica de baja resistencia y un flujo bien mantenido a lo largo de la diástole. Existen pocos trabajos que evalúen la medición Doppler del flujo arterial hepático, sin embargo, un estudio preliminar indica que son útiles en perros con fístulas arterioportales, pero no en perros con trombosis de la vena porta o insuficiencia hepática adquirida. En un estudio realizado con diez perros Beagle, el pico de velocidad normal sistólica preprandrial fue de $1,5 \pm 0,4$ m/s y el índice de resistencia fue de $0,68 \pm 0,04$, mientras que perros con fístulas arterioportales congénitas presentaban una resistencia

vascular marcadamente reducida. Por el contrario, no se detectaron diferencias significativas entre perros de raza Beagle normales y perros con trombosis de la vena porta o con insuficiencia hepática adquirida (Lamb *et al.*, 1999).

Por tanto, cabe resaltar que la ecografía es un método excelente para detectar vasos dilatados y tortuosos asociados con fístulas arteriovenosas hepáticas. La ecografía Doppler ayuda a diferenciar estas fístulas arteriovenosas de derivaciones portosistémicas convencionales, en las cuales se esperan patrones de flujo venoso típicos (Bailey *et al.*, 1988; Lamb *et al.*, 1999; Szatmári *et al.*, 2000).

3.3.8.3. RIÑONES

El examen ecográfico del tracto urinario se ha convertido en un procedimiento de rutina en medicina veterinaria. La ecografía es, normalmente, una de las primeras pruebas que se realizan para evaluar los riñones debido a la posibilidad de obtener información relativa al tamaño, forma y estructura interna. Las ventajas respecto a la radiología convencional incluyen, entre otras, la posibilidad de visualizar los riñones en animales con emaciación y, en aquellos con fluido retroperitoneal. También es fácil detectar, en comparación con la radiología, la presencia de líquido subcapsular, líquido perirrenal localizado o pequeñas masas renales o perirrenales, así como dilataciones pélvicas o de los uréteres. Sin embargo, la ecografía también presenta limitaciones, como la imposibilidad de visualizar completamente los riñones en algunos perros de gran tamaño u obesos, o en aquellos con excesivo gas intestinal.

Actualmente, para el diagnóstico, las aspiraciones y biopsias percutáneas ecoguiadas son procedimientos de elección frente a otras técnicas de biopsia más invasivas y menos selectivas. Las intervenciones ecoguiadas, como la pielocentesis percutánea y la pielografía anterógrada se pueden realizar con finalidad diagnóstica o terapéutica (Nyland *et al.*, 2002d).

3.3.8.3.1. ANATOMÍA NORMAL Y ASPECTO ECOGRÁFICO DE LOS RIÑONES

Los riñones están localizados en la cavidad abdominal en la región lumbar craneal, en posición lateral con respecto a la vena cava caudal y a la aorta. El riñón izquierdo está en una posición más caudal que el derecho y fuera del arco costal, por lo que su visualización suele ser más fácil (Green, 1996b; Lorient *et al.*, 1997). En la especie canina el tamaño de los riñones depende de la raza y de su conformación corporal, si bien la relación entre la longitud y la altura es constante 2:1 (Fritsch y Gerwing, 1996). El tamaño renal es un parámetro importante a la hora de evaluar distintas enfermedades en el perro, por lo que su medida nos puede aportar una útil y significativa información clínica (Gary, 1995; Kealy, 2000). Radiográficamente podemos estimar su tamaño mediante la comparación de la longitud renal con la longitud de la segunda vértebra lumbar. Así, se ha propuesto

una relación de 2,5-3,5 entre estas dos estructuras, considerando las distintas variaciones en función del tamaño corporal y la conformación de las diferentes razas. Este índice se considera más fiable que la medida absoluta del riñón, sin embargo, está limitado por factores como la gran variabilidad que podemos encontrar en la interpretación de las radiografías en función de la inclinación y profundidad de los riñones. Además, el contorno renal puede ser difícil de visualizar en perros normales, especialmente el del riñón derecho (Finco *et al.*, 1971; Mareschal *et al.*, 2007). Para mejorar la visualización renal se pueden utilizar otras técnicas como la urografía excretora, aunque la utilización de estos contrastes está contraindicada en perros con insuficiencia renal (Kerry, 2005).

La ecografía nos permite una mejor visualización de los riñones y no es necesario recurrir a la utilización de contrastes intravenosos (Konde *et al.*, 1986b). La validez de esta técnica para la medición renal se contrastó hace tiempo en medicina humana (Rasmussen *et al.*, 1978; Babcock *et al.*, 1985; Han y Babcock, 1985) y más recientemente en medicina veterinaria (Nyland *et al.*, 1997), especialmente para el seguimiento de transplantes renales. No obstante, las técnicas utilizadas eran complejas y se requerían largos períodos de tiempo para su realización, por lo que no eran prácticas para su utilización en la clínica diaria, donde se requieren técnicas rápidas y simples. Para solventar este problema Mareschal y colaboradores propusieron en el año 2007 la utilización de un índice ecográfico entre la longitud renal y el diámetro de la luz de la arteria aorta abdominal, con el fin de poder determinar si el tamaño renal era normal o no. Así, en perros con funcionalidad renal normal, han propuesto que el tamaño renal está disminuido cuando este índice es inferior a 5,5; y aumentado cuando es superior a 9,1 (Mareschal *et al.*, 2007).

El polo craneal del riñón izquierdo contacta lateralmente con la curvatura mayor del estómago y la cara dorsomedial del bazo. El bazo a menudo es ventral al riñón, proporcionando una ventana acústica ideal. Craneal y medialmente, se localizan respectivamente el lóbulo pancreático izquierdo y la glándula adrenal correspondiente. Con todo, el riñón izquierdo es muy móvil y sus relaciones varían según el estado de repleción gástrica.

El polo craneal del riñón derecho está alojado en la fosa renal del lóbulo caudado del hígado. Ventralmente, se sitúan el lóbulo derecho del páncreas y el colon ascendente. El borde medial del riñón derecho está íntimamente asociado a la vena cava caudal y a la glándula adrenal derecha. Lateralmente contacta, a veces, con la porción descendente del duodeno (Loriot *et al.*, 1997; Nyland *et al.*, 2002d).

La mayoría de los autores están de acuerdo en distinguir tres zonas de distinta ecogenicidad en la imagen ecográfica del riñón (Loriot *et al.*, 1997). Estas regiones consisten en un complejo central hiperecogénico, que corresponde al seno renal y la grasa peripélvica; una región hipoecogénica alrededor de la pelvis que está formada por asas de Henle, paralelas entre sí y cargadas de orina, representando la médula renal; y la zona más externa, con ecogenicidad intermedia, la corteza renal.

La cortical está limitada periféricamente por una línea ecogénica estrecha que representa la cápsula renal (Konde *et al.*, 1984; Green, 1996b; Lorient *et al.*, 1997; Nyland *et al.*, 2002d).

Conocer la relación normal de la ecogenicidad renal con respecto a la del hígado y a la del bazo es importante para identificar las principales alteraciones (Nyland y Hager, 1985). La ecogenicidad de la corteza renal es similar o ligeramente inferior a la del parénquima hepático normal y menor que la del parénquima esplénico (Nyland *et al.*, 2002d). No obstante, se ha afirmado recientemente que una ligera hiperecogenicidad renal con respecto al hígado también puede interpretarse como un hallazgo normal en determinados perros (Ivancic y Mai, 2008). Las variaciones marcadas en estas relaciones sugieren posibles cambios patológicos en uno o más de estos órganos (Nyland *et al.*, 2002d), aunque debemos tener en cuenta que la ecogenicidad de los órganos puede variar con la frecuencia y el tipo de transductor utilizado (Platt *et al.*, 1988).

3.3.8.3.2. ALTERACIONES PATOLÓGICAS DEL RIÑÓN

Dentro de las lesiones del parénquima renal encontramos lesiones difusas, con aumento o disminución de la ecogenicidad, y lesiones focales o multifocales más fáciles de reconocer (Lorient *et al.*, 1997).

3.3.8.3.2.1. LESIONES DIFUSAS DEL PARÉNQUIMA RENAL

Las alteraciones difusas del parénquima renal son difíciles de diagnosticar utilizando exclusivamente la ecografía como medio diagnóstico (Fritsch y Gerwing, 1996). En humanos, las enfermedades que afectan de forma difusa al riñón se dividen en aquellas que causan un aumento de la ecogenicidad cortical con definición corticomedular aumentada, y aquellas otras que producen una disminución de la definición entre la corteza y la médula. Una reducción en la ecogenicidad cortical es más difícil de detectar y presuntamente resulta del edema asociado a enfermedades agudas. Las distintas enfermedades que pueden cursar con estas variaciones en la ecogenicidad están perfectamente definidas en pacientes humanos pero no en perros (Nyland *et al.*, 2002d), donde es poco fiable correlacionar la ecogenicidad renal con un diagnóstico histopatológico específico (Janthur y Wirth, 1997).

En el perro podemos encontrar un aumento de la ecogenicidad cortical en la nefritis glomerular e intersticial, necrosis tubular aguda o nefrosis causadas por agentes tóxicos o intoxicación por etilenglicol, enfermedad renal en estadio final o en la calcificación del parénquima o nefrocalcinosis (Walter *et al.*, 1987; Adams *et al.*, 1991). En perros con nefropatía hipercalcémica se ha observado mediante ecografía una franja hiperecoica (también descrita como síndrome del borde medular) en la unión corticomedular. Esta imagen está asociada a la calcificación de la membrana

basal de la cápsula de Bowman y del epitelio tubular de la corteza y médula adyacentes. El pronóstico en este caso es malo debido a la presencia de daño renal grave por hipercalcemia (Barr *et al.*, 1989). Sin embargo, esta misma imagen puede asociarse a gran variedad de trastornos y también observarse en perros y gatos clínicamente normales. Por lo tanto, se necesita más investigación en este campo para determinar la causa y significado de este hallazgo (Nyland *et al.*, 2002d).

En perros y gatos con displasias renales, enfermedades inflamatorias crónicas o con riñones terminales por gran cantidad de causas, se ha descrito un incremento global de la ecogenicidad renal y una reducción de la definición corticomedular. Los riñones terminales son típicamente pequeños, irregulares y difusamente ecogénicos con mala visualización de la estructura renal interna (Walter *et al.*, 1988).

El incremento de ecogenicidad cortical debe juzgarse subjetivamente y por comparación con la ecogenicidad del hígado y del bazo (figura 29). No existen otros hallazgos específicos en el estudio ecográfico que ayuden a distinguir una enfermedad de otra. La historia clínica puede orientar al diagnóstico, pero normalmente es necesario una biopsia ecoguiada renal para confirmarlo (Loriot *et al.*, 1997; Nyland *et al.*, 2002d).

El linfosarcoma en los riñones del perro y del gato puede causar una disminución de la ecogenicidad cortical, áreas hipoecoicas, nódulos o masas, con una gran variedad de imágenes ecográficas. Por lo que es necesaria la aspiración o biopsia para llegar al diagnóstico definitivo (Konde *et al.*, 1986b; Walter *et al.*, 1987; Walter *et al.*, 1988).



Figura 28: Imagen ecográfica que muestra la ecogenicidad normal del riñón, siendo similar a la del parénquima hepático



Figura 29: Imagen ecográfica que muestra el aumento de la ecogenicidad cortical de riñón, siendo ésta muy superior a la del hígado

3.3.8.3.2.2. LESIONES FOCALES DEL PARÉNQUIMA RENAL

Las alteraciones focales de los riñones tales como los quistes, abscesos, tumores, hematomas o cicatrices de infartos, son lesiones fácilmente detectables mediante ecografía (Loriot *et al.*, 1997).

Los quistes renales son hallazgos ecográficos que no suelen tener significación clínica (Fritsch y Gerwing, 1996). Pueden ser únicos o múltiples, algunas veces afectando a ambos riñones (Konde *et al.*, 1986b; Walter *et al.*, 1987; Walter *et al.*, 1988). Se trata de formaciones anecogénicas, con un contorno redondo u ovoide, bien delimitadas y con un refuerzo posterior evidente. La pared no representa una estructura bien diferenciada. Si presentan un gran tamaño o si existe enfermedad poliquística pueden deformar el contorno del riñón (Fritsch y Gerwing, 1996; Nyland *et al.*, 2002d).

Los abscesos renales son masas de ecoestructura mixta y contorno irregular. Su contenido es más o menos ecogénico en función del grado de necrosis existente. Su identificación depende de la ecogenicidad global del órgano y no puede emitirse un diagnóstico certero hasta haber efectuado una punción y/o biopsia (Loriot *et al.*, 1997). Los abscesos renales son raros y mucho menos frecuentes que las masas neoplásicas (Nyland *et al.*, 2002d).

Las neoplasias renales, sobre todo las focales, son sencillas de detectar ecográficamente. En la mayoría de los casos aparecen como masas sólidas con paredes mal definidas y pueden ser hipoeoicas, isoecoicas o hiperecoicas o presentar un patrón mixto (Cartee *et al.*, 1980; Konde *et al.*, 1985; Konde *et al.*, 1986b; Walter *et al.*, 1987; Walter *et al.*, 1988). El patrón no es característico de un tipo de tumor, aunque a menudo se han asociado masas uniformemente hipoeoicas con linfoma (Nyland *et al.*, 2002d). En perros, la neoplasia renal primaria maligna más común es el adenocarcinoma, que es más frecuente en machos (Klein *et al.*, 1988), mientras que el tumor renal benigno más frecuente es el hemangioma (Hammer y LaRue, 1995; Eddlestone *et al.*, 1999). Aunque no es posible determinar ecográficamente el tipo histológico de tumor, si se trata de una neoplasia multicéntrica, la sospecha inicial debe ser la de hemangiosarcoma (Fritsch y Gerwing, 1996).

Las masas renales no neoplásicas con patrón sólido también son fácilmente reconocibles. Los granulomas, aunque son raros, corresponden a esta categoría. La calcificación en la pared de un hematoma, absceso o quiste puede impedir la transmisión del ultrasonido y no permitir una caracterización adecuada de la lesión, llevándonos a un diagnóstico erróneo de masa sólida. En casos dudosos, debería realizarse una aspiración con aguja fina mejor que una biopsia por punción (Nyland *et al.*, 2002d).

Los hematomas se caracterizan por presentar imágenes poco nítidas, cuya evolución lleva al mismo resultado que los infartos. A largo plazo, el contorno renal está modificado y se aprecia una depresión hiperecogénica (Loriot *et al.*, 1997). Los hematomas, al igual que los abscesos, suelen mostrar

patrones variables dependiendo de su antigüedad, por lo que puede ser necesaria para llegar al diagnóstico una aspiración para análisis citológico y cultivo microbiano. Cuando se trata de un hematoma, hay que observar la resolución progresiva en sucesivos exámenes ecográficos (Nyland *et al.*, 2002d).

3.3.8.3.3. EVALUACIÓN DOPPLER DEL RIÑÓN

La utilidad potencial del Doppler en el examen renal en animales ha surgido de los estudios previos en medicina humana. El Doppler ecográfico en humanos aporta información funcional adicional en pacientes con fallo renal agudo y crónico, con obstrucción del tracto urinario, en casos de transplantes renales y neoplasias (Ramos *et al.*, 1988; Platt *et al.*, 1989; Gottlieb *et al.*, 1989; Platt *et al.*, 1991a; Platt *et al.*, 1991b; Platt *et al.*, 1992; Renowden y Cochlin, 1992a; Renowden y Cochlin, 1992b; Renowden *et al.*, 1992; Platt, 1992; Platt *et al.*, 1994; Platt, 1997; Hilborn *et al.*, 1997; Tublin *et al.*, 2003; Radermacher, 2006), así como en el seguimiento y monitorización de pacientes hipertensos (Pontremoli *et al.*, 1999; Galesić *et al.*, 2000). En el caso de los perros existen varios estudios que describen la hemodinámica renal fisiológica (Nyland *et al.*, 1993; Morrow *et al.*, 1996; Abildgaard *et al.*, 1997; Brown *et al.*, 1997; Reid *et al.*, 1980; Novellas *et al.*, 2007a), y el efecto que tienen sobre ésta distintos grados de anemia (Vatner *et al.*, 1972; Koma *et al.*, 2006) y diversos agentes farmacológicos (Arger *et al.*, 1999; Sehgal *et al.*, 2001; Novellas *et al.*, 2007b). También se ha investigado sobre los cambios hemodinámicos renales en perros con fallo renal (Nyland *et al.*, 1993; Morrow *et al.*, 1996; Rivers *et al.*, 1997a; Rivers *et al.*, 1997b; Choi *et al.*, 2003), displasia renal congénita (Morrow *et al.*, 1996), enfermedad hepática (Novellas *et al.*, 2007c), hipoadrenocorticismo (Koch *et al.*, 1997), obstrucción (Dodd *et al.*, 1991; Nyland *et al.*, 1993), en rechazos de transplantes renales (Pozniak *et al.*, 1992; Takahashi *et al.*, 1999) y en enfermedades infecciosas como la babesiosis canina (Koma *et al.*, 2005; Fraga *et al.*, 2007b; Fraga *et al.*, 2007c; Fraga *et al.*, 2008c).

Tanto en humanos como en animales los parámetros Doppler utilizados para valorar la hemodinámica renal son: el flujo sanguíneo (Reid *et al.*, 1980), la velocidad en el pico sistólico (Pope *et al.*, 1996; Gaschen *et al.*, 2001), la velocidad media (Okada *et al.*, 2001), la velocidad diastólica final (Knapp *et al.*, 1995), el índice de resistencia (IR) (Platt, 1992; Pozniak *et al.*, 1992; Knapp *et al.*, 1995; Sari *et al.*, 1999; Akihiro *et al.*, 2001; Ikee *et al.*, 2005) y el índice de pulsatilidad (IP) (Miletic *et al.*, 1998).

No obstante, de todos ellos, el índice de resistencia de una arteria intrarrenal, interlobar o arcuata (figura 30), es el que probablemente nos aporta unos resultados más fiables (Platt, 1992; Knapp *et al.*, 1995) y es, por tanto, el parámetro más utilizado en las investigaciones clínicas sobre las distintas enfermedades renales (Koma *et al.*, 2006; Radermacher, 2006).

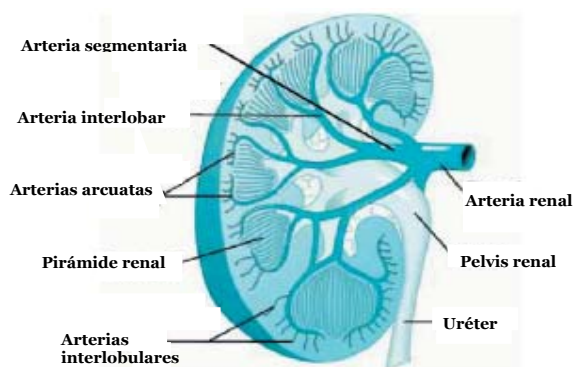


Figura 30: Sistema vascular renal (Radermacher, 2006)

Gracias a los índices de resistencia (IR) y a los índices de pulsatilidad (IP) podemos obtener, mediante ecografía Doppler de onda pulsada (figura 31), información indirecta acerca de la resistencia vascular periférica y, por tanto, evaluar y comparar la forma de las distintas ondas Doppler, algo que no es posible con velocidades absolutas. Estos parámetros, al contrario que las medidas absolutas de velocidad, son independientes de la posición y del ángulo de la sonda ecográfica, por lo que nos permite obtener medidas fiables y reproducibles que representan la resistencia que existe dentro de la arteria al flujo sanguíneo (Nelson y Pretorius, 1988; Pontremoli *et al.*, 1999; Ikee *et al.*, 2005). Estos índices son índices de velocidad que se calculan mediante las siguientes ecuaciones (Burns, 1987; Nelson y Pretorius, 1988):

$$IR = (\text{velocidad en el pico sistólico}) - (\text{velocidad diastólica final}) / (\text{velocidad en el pico sistólico})$$

$$IP = (\text{velocidad en el pico sistólico}) - (\text{velocidad diastólica final}) / (\text{velocidad media durante el ciclo})$$

No obstante, hay que tener en cuenta que la forma de las ondas pulsátiles puede variar en función del gasto cardíaco, la orientación gravitacional, el ejercicio físico, el estrés y la digestión (Nelson y Pretorius, 1988). En estudios realizados en medicina humana se ha visto que el valor de los índices de resistencia puede verse incrementado en pacientes con hipotensión sistémica, con una marcada disminución del ritmo cardíaco y en aquellos que presentan líquido libre subcapsular o perirrenal (Platt, 1992). También se ha descrito que los niños y los pacientes geriátricos presentan unos valores superiores a los adultos (Terry *et al.*, 1992).

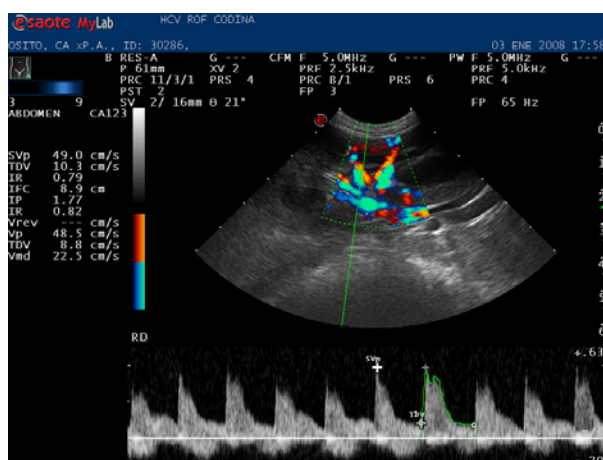


Figura 31: Visualización de los vasos sanguíneos renales con el Doppler Color y cálculo del IR y del IP de una arteria arcuata renal mediante el Doppler pulsátil

El deterioro arteriolar juega un papel importante en la progresión de la enfermedad renal, y está fuertemente asociado con el daño glomerular y tubulointersticial. Kang y sus colaboradores (2002) demostraron que el grado de pérdida de los capilares peritubulares y glomerulares en pacientes con enfermedad renal progresiva está directamente relacionado con la gravedad de la esclerosis glomerular y la fibrosis intersticial. Por lo tanto, los índices de resistencia, que son el reflejo de la resistencia vascular renal, son un buen indicador del daño o lesión renal (Kang *et al.*, 2002; Sánchez-Lozada *et al.*, 2003). Además, varios estudios demuestran que el grado de extensión del daño tubulointersticial guarda relación con el pronóstico renal (Sánchez-Lozada *et al.*, 2003; Nangaku, 2004), y puesto que la fibrosis tubulointersticial tiene como consecuencia un incremento de la resistencia en el parénquima renal, los índices de resistencia pueden servir como potenciales indicadores de este pronóstico (Ikee *et al.*, 2005). Así, pacientes que presentan unos índices de resistencia elevados están relacionados con una peor evolución (Platt *et al.*, 1997; Splendiani *et al.*, 2002; Ikee *et al.*, 2005). La gran importancia de este aspecto radica en la posibilidad de anticiparnos a un posible empeoramiento del cuadro clínico, evitando lesiones adicionales que puedan llevar a una disfunción definitiva de los riñones (Platt *et al.*, 1988; Platt *et al.*, 1992; Morrow *et al.*, 1996; Melo *et al.*, 2006).

En varios estudios se señalan los valores considerados como normales para los índices de resistencia de perros no sedados, y las diferencias entre ellos son muy pequeñas: $0,62 \pm 0,05$ (Nyland *et al.*, 1993), $0,61 \pm 0,06$ (Morrow *et al.*, 1996) y $0,62 \pm 0,04$ (Novellas *et al.*, 2007). Si bien, a la hora de establecer un límite superior para determinar incrementos anormales en la resistencia vascular, existe una mayor discrepancia entre los distintos estudios. Así, encontramos valores de 0,70 (Morrow *et al.*, 1996), 0,73 (Nyland *et al.*, 1993; Rivers *et al.*, 1997b) y 0,72 (Novellas *et al.*, 2007).

En el caso de los índices de pulsatilidad renales en perros no sedados se considera como medida normal $1,15 \pm 0,15$ y valor patológico por encima de 1,52 (Novellas *et al.*, 2007).

MATERIAL Y MÉTODOS

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. RECEPCIÓN Y SELECCIÓN DE LOS ANIMALES ENFERMOS

Este trabajo se ha llevado a cabo con 104 perros de diferentes razas, edad y sexo, diagnosticados de babesiosis en la consulta del Servicio de Medicina Interna de Pequeños Animales del Hospital Veterinario Universitario Rof Codina de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela.

Los criterios para la inclusión de los pacientes en este estudio fueron, en primer lugar, diagnosticar la babesiosis mediante la identificación del parásito *Babesia canis* en extensiones sanguíneas y, en segundo lugar, disponer de una hematología y parámetros bioquímicos indicativos de la función hepática y renal, que permitieran, junto con los hallazgos de la exploración clínica, una adecuada clasificación de los animales en tres grupos, basándonos en el modelo establecido por Jacobson y Clark (1994) que asume los criterios propuestos por la OMS para la malaria:

- **Babesiosis no complicada leve:** perros con un hematocrito superior al 20% y sin complicaciones orgánicas detectables.
- **Babesiosis no complicada grave:** perros que presentan un hematocrito inferior al 20% y sin complicaciones orgánicas detectables.

- **Babesiosis complicada:** perros con una o varias alteraciones orgánicas, definidas del siguiente modo:
 - **Fallo renal:** valores de creatinina superiores a 1,8 mg/dl.
 - **Hepatopatía:** ictericia y/o valores de alanina aminotransferasa y fosfatasa alcalina que superen en más del doble su límite normal superior en el perro (100 UI/l y 212 UI/l respectivamente).
 - **Anemia hemolítica inmunomediada:** esferocitosis y/o autoaglutinación junto con la aparición de anemia o empeoramiento de la misma pese a la erradicación del parásito. La anemia hemolítica inmunomediada se descarta en aquellos pacientes que se recuperan sin la necesidad de un tratamiento inmunosupresor.
 - **Edema pulmonar:** disnea grave con descarga nasal espumosa o radiografía compatible con edema.
 - **Hemoconcentración:** hematocrito superior al 37% junto con membranas mucosas congestivas y hemólisis grave (hemoglobinuria grave y/o hemoglobinemia muy evidente).
 - **Babesiosis cerebral:** signos neurológicos centrales no atribuibles a ninguna otra causa.

En este estudio se descartaron todos aquellos pacientes que hubieran padecido alguna enfermedad que pudiese ser la responsable de alguna de las lesiones encontradas y que desvirtuarían nuestros resultados.

4.2. EXAMEN FÍSICO DE LOS ANIMALES ENFERMOS

Todos los perros fueron sometidos a una exploración clínica completa, valorándose en ella la condición corporal del perro, el estado mental, la temperatura corporal, los linfonódulos, la apariencia de las mucosas, la palpación abdominal, así como el aparato cardiovascular, respiratorio, urogenital, nervioso y musculoesquelético.

4.3. ANÁLISIS LABORATORIALES

4.3.1. TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE

A todos los perros se les extrajo sangre venosa por venopunción de la vena yugular o cefálica con una jeringuilla de 10 ml y una aguja de calibre 20. Posteriormente depositamos 5 ml de sangre en un tubo de vidrio sin anticoagulante, 1 ml en un tubo Vacutainer con EDTA K3 para la realización de la hematología y 2 ml en un tubo con 34 UI de heparina de litio para analizar los parámetros bioquímicos. Antes de la extracción procedimos a la preparación aséptica de la zona e ingurgitación del vaso por compresión proximal.

En el caso del suero, los tubos se mantuvieron 30 minutos en reposo y seguidamente fueron centrifugados a 3000 rpm (1520 g) durante 15 minutos. Para la obtención del plasma, la sangre heparinizada se conservó a 4 °C hasta su posterior centrifugación en el laboratorio, la cual se realizó a 3000 rpm (1520 g) y a 4 °C durante 20 minutos. Posteriormente guardamos varias alícuotas de 1 cm³ de suero y una de plasma en tubos Eppendorf, que se identificaron debidamente y se mantuvieron almacenados a una temperatura entre -20 y -30 °C hasta el momento de realizar las diferentes determinaciones laboratoriales.

Las muestras obtenidas en el Vacutainer con EDTA K3 para la realización de la hematología se procesaron de forma inmediata para que los resultados fuesen lo más fiables posibles.

4.3.2. HEMATOLOGÍA

4.3.2.1. PROCESADO DE LA SANGRE PARA LA OBSERVACIÓN DE FORMAS PARASITARIAS MEDIANTE MICROSCOPIA ÓPTICA

Con una pipeta Pasteur depositamos una gota de sangre con anticoagulante en el tercio medio de un portaobjetos, y con otro procedimos a la realización de una extensión de capa fina homogénea, con el fin de obtener una mejor fijación del colorante sin sobrecoloraciones. Para su tinción utilizamos los colorantes Panóptico Rápido (Química Clínica Aplicada S.A., España), que constituyen un sistema de tinción diferencial de las estructuras normales y anormales de la sangre, basándose en la tinción original de Romanowsky. Esta técnica aúna la policromía y calidad de los métodos clásicos (May Grünwald, Giemsa) con una gran rapidez de ejecución, y consta de los siguientes reactivos:

- Panóptico Rápido nº 1, compuesto por una disolución metanólica de colorante de triarilmetano, donde sumergimos la muestra durante 15 segundos.

● Panóptico Rápido nº 2, compuesto por una disolución acuosa tamponada de xanteno. Sumergimos la muestra otros 30 segundos.

● Panóptico Rápido nº 3, compuesto por una disolución acuosa tamponada de colorantes derivados de la tiazina, donde sumergimos finalmente la muestra durante otros 20 segundos.

A continuación lavamos los frotis con agua destilada y los dejamos secar al aire para evitar cualquier tipo de interferencias en su posterior observación, la cual se efectuó en un microscopio Olympus® (Barcelona, España) con objetivo de inmersión a 100x.

4.3.2.2. ANÁLISIS HEMATOLÓGICO

El recuento de las células sanguíneas se llevó a cabo con un analizador LaserCyte® (IDEXX Laboratories, Holanda), que es un sistema hematológico de Citometría de Flujo (CMF) que clasifica las células hemáticas de la muestra mediante el impacto de un haz de luz láser (figura 32). El impacto de cada célula con el rayo de luz produce señales que corresponden a diferentes parámetros de la célula (diámetro celular, complejidad, tamaño, granularidad y luz absorbida) que son recogidos por distintos detectores. Estos detectores convierten dichas señales en emisiones electrónicas que posteriormente serán digitalizadas para permitir la medición simultánea de varios parámetros de una misma célula.

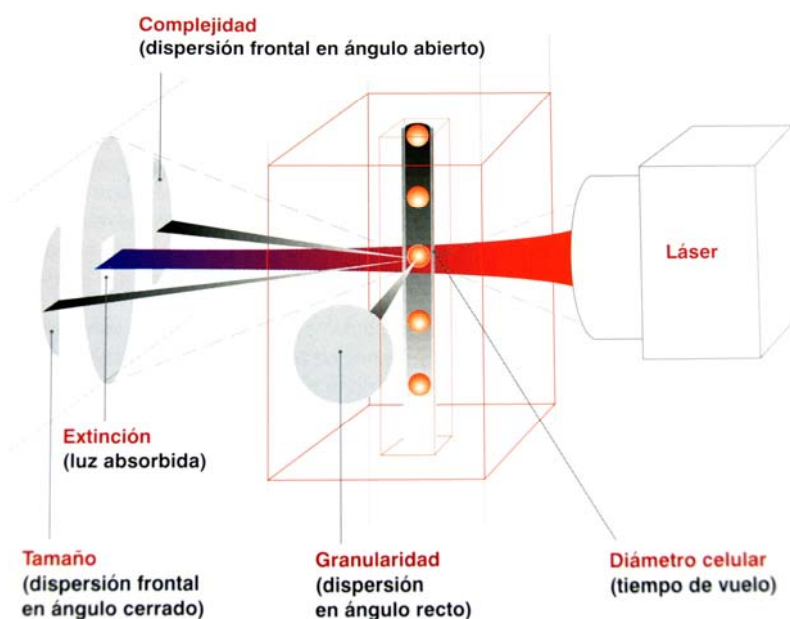


Figura 32: Esquema óptico del citómetro de flujo láser (IDEXX Laboratories)

El LaserCyte® está diseñado específica y exclusivamente para el análisis de muestras de sangre entera canina, felina y equina, tratadas con EDTA K3, siguiendo el procedimiento que a continuación se indica:

El recuento de células rojas, reticulocitos y plaquetas lo lleva a cabo al principio del análisis. En este punto debieran existir entre 500 y 1000 células sanguíneas rojas por cada célula blanca, por lo que la presencia de células de la serie blanca en el recuento inicial de eritrocitos es estadísticamente insignificante. En función de la luz absorbida por las células el LaserCyte® puede calcular el MPV (a partir de la media de los máximos de plaquetas) y el PDW (a partir del coeficiente de variación de la población de plaquetas); mientras que el MCV y el RDW los calcula en función del tamaño celular, a partir de la media de los máximos y del coeficiente de variación de la población de eritrocitos respectivamente. El resto de parámetros de la serie roja los calcula mediante las siguientes fórmulas:

- $Hct = RBC \times MVC / 10$
- $MCH = (Hb/RBC) \times 10$
- $MCHC = 1000 \times (Hg/MCV \times RBC)$
- $\% \text{ Reticulocitos} = 100 \times \text{Reticulocitos}/RBC$

Después realiza el recuento de las células blancas mediante un proceso de lisado selectivo de las células rojas, permaneciendo las células blancas intactas. El sistema LaserCyte® también incorpora otro proceso de lisado muy preciso que permite diferenciar los distintos tipos de células blancas: linfocitos, monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos.

Finalmente, efectúa el cálculo de la hemoglobina mediante absorción espectral. Así, en el primer ciclo del análisis, en el ciclo de los eritrocitos, realiza el cálculo de la hemoglobina intracelular y en el segundo ciclo, el ciclo de los leucocitos, calcula la hemoglobina posterior a la lisis de los eritrocitos. La comparación de las medias de hemoglobina de los LED le permite al LaserCyte® hacer una lectura final más precisa de la concentración de hemoglobina.

A continuación exponemos los rangos de referencia propuestos por IDEXX Laboratories para cada uno de los parámetros hematológicos obtenidos mediante el analizador LaserCyte® (tabla 9):

	CACHORRO (< 6 MESES)	ADULTO	GERIÁTRICO (> 8 AÑOS)
Hct (%)	32,0-55,0	37,0-55,0	37,0-55,0
RBC (millones/ μ l)	4,7-8,5	5,5-8,5	5,5-8,5
Hb (g/dl)	10,3-18,0	12,0-18,0	12,0-18,0
MCV (fL)	60,0-77,0	60,0-77,0	60,0-77,0
MCH (pg)	18,5-30,0	18,5-30,0	18,5-30,0
MCHC (g/dl)	30,0-37,5	30,0-37,5	30,0-37,5
RDW (%)	14,7-17,9	14,7-17,9	14,7-17,9
WBC (miles/ μ l)	5,5-16,9	5,5-16,9	5,5-16,9
Recuento absoluto de linfocitos (miles/ μ l)	0,5-4,90	0,70-4,90	0,50-4,90
Recuento absoluto de monocitos (miles/ μ l)	0,30-2,0	0,3-2,0	0,3-2,0
Recuento absoluto de neutrófilos (miles/ μ l)	3,0-12,0	2,0-12,0	2,0-12,0
Recuento absoluto de eosinófilos (miles/ μ l)	0,1-1,5	0,1-1,5	0,1-1,5
Recuento absoluto de basófilos (miles/ μ l)	0,0-0,1	0,0-0,1	0,0-0,1
Recuento absoluto de plaquetas (miles/ μ l)	175-500	175-500	175-500

Tabla 9: Rangos de referencia de las diferentes variables hematológicas según el método utilizado en nuestro laboratorio (LaserCyte®, IDEXX Laboratories)

En el caso de los valores de los índices plaquetarios, MPV y PDW, valores superiores a 15-17 fL y 15-18% respectivamente, demuestran la existencia de plaquetas gigantes (megacariocitos) en sangre periférica (IDEXX Laboratories).

4.3.2.2.1. CÁLCULO DEL VALOR ABSOLUTO DE RETICULOCITOS CORREGIDO

Valor absoluto de reticulocitos corregido = (nº absoluto de reticulocitos/ml x Hematocrito del paciente) / (46 x Índice de corrección)

El primer paso es realizado automáticamente por el analizador LaserCyte®, que nos aporta la cifra absoluta de reticulocitos. Posteriormente se debe corregir la cifra en función de la menor masa eritrocítica, empleando para ello el recuento de eritrocitos, la hemoglobina o el hematocrito. En

nuestro caso hemos utilizado este último, multiplicando el número absoluto de reticulocitos por el hematocrito del perro y dividiendo el valor resultante entre el hematocrito medio de la especie, 46% en el caso del perro. El tercer paso fue corregir los efectos de la eritropoyetina (EPO) sobre la liberación medular de reticulocitos. Para ello, una vez ajustado el número total de reticulocitos en función del hematocrito reducido, dividimos el número final calculado por el promedio de días que vive un reticulocitos en la sangre periférica en función del hematocrito del perro (tabla 10). Una vez realizado esto, consideramos no regenerativo un recuento absoluto de reticulocitos corregido inferior a 105.000 reticulocitos/ml (Feldman, 2007).

HEMATOCRITO	DESARROLLO EN LA MÉDULA (días)	DESARROLLO EN SANGRE PERIFÉRICA (días)
35-45	3,5	1
25-35	3	1,5
15-25	2,5	2
<15	1,5	2,5

Tabla 10: Promedio de tiempo necesario para la maduración de los reticulocitos en el perro (Feldman, 2007)

4.3.3. ANÁLISIS BIOQUÍMICO

El análisis bioquímico se realizó en un analizador VetTest® (IDEXX Laboratories) basado en la tecnología de placa seca; sistema muy utilizado en los últimos años en medicina veterinaria ya que minimiza los efectos de sustancias interferentes (muestras hemolíticas, lipémicas o ictericas).

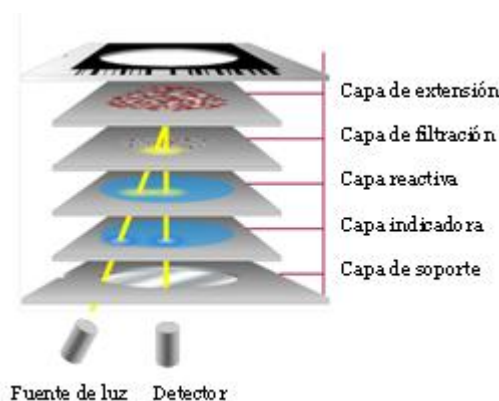


Figura 33: Distintas capas de las placas reactivas del VetTest®

Este analizador utiliza placas reactivas, cada una de las cuales consta de cinco capas (figura 33):

1. **Capa de extensión**, donde la muestra se distribuye uniformemente.
2. **Capa de filtración**, que filtra las sustancias que interfieren con los resultados.
3. **Capa de reactivo**, que reacciona con la muestra.
4. **Capa de análisis**, para el análisis espectral de la muestra
5. **Capa de soporte**, que es la interfaz óptica.

El plasma impregna la placa y se mezcla con la capa de reactivo donde se produce una reacción colorimétrica, produciéndose un cambio de color. Esta reacción se basa en la Ley de Lambert-Beer y se divide en dos tipos, de punto final y cinéticas.

Dado que la tecnología de detección es por reflectometría, la luz de la lámpara incide en la placa y se refleja en un detector sensible a la luz, que transformará las distintas intensidades de color en valores numéricos.

En nuestro estudio hemos valorado los siguientes parámetros:

● **Creatinina (CREA):**

- Reactivos: creatinina aminohidrolasa, creatina aminohidrolasa, sarcosina oxidasa, peroxidasa, ascorbato oxidasa, 2-(3,5-Dimetoxi-4-hidroxifenil)-4,5-bis (4-dimetilaminofenil) imizadol.
- Tipo de reacción: cinética.

● **Nitrógeno ureico en sangre (BUN):**

- Reactivos: ureasa, N-propil-4-(2,6-dinitro-4-clorobenzil) quinolina etano sulfonato.
- Tipo de reacción: punto final

● **Alanina aminotransferasa (ALT):**

- Reactivos: 2-Amino-2-metil-propanol; p-nitrofenilfosfato; Sulfato de magnesio.
- Tipo de reacción: cinética.

● **Fosfatasa alcalina (ALP):**

- Reactivos: Lactato deshidrogenasa; Alanina; α -cetoglutarato de sodio; Nicotinamida dinucleotido de adenina, reducida; Sodio piridoxal fosfato
- Tipo de reacción: cinética.

● **Bilirrubina Total (TBIL):**

- Reactivos: Difilina copoli (estireno-co-N-vinilbenzil, sal cuaternaria de co-divinilbenzeno) 4-(N-Carboximetilaminosulfonil) bencenodiazonio hexafluorofosfato.
- Tipo de reacción: Punto final.

● **Glucosa (GLU):**

- Reactivos: Glucosa oxidasa, Peroxidasa, 1,7-Dihidroxi-naftaleno, Hidrocloruro de 4-aminoantipirina.
- Tipo de reacción: Punto final.

● **Proteínas plasmáticas totales (PT):**

- Reactivos: Sulfato de cobre, ácido tartárico, hidróxido de litio.
- Tipo de reacción: Punto final.

A continuación exponemos los rangos de referencia propuestos por IDEXX Laboratories para las diferentes variables plasmáticas obtenidas mediante el analizador VetTest® (tabla 11):

	CACHORRO (< 6 MESES)	ADULTO	GERIÁTRICO (> 8 AÑOS)
ALP (U/l)	46-337	23-212	23-212
ALT (U/l)	8-75	10-100	10-100
BILT (mg/dl)	0-0,8	0-0,9	0-0,9
BUN (mg/dl)	7-29	7,0-27,0	7,0-27,0
CREA (mg/dl)	0,3-1,2	0,5-1,8	0,5-1,8
GLU (mg/dl)	77-150	77-143	77-143
PT (g/dl)	4,8-7,2	5,2-8,2	5,2-8,2

Tabla 11: Rangos de referencia de las diferentes variables plasmáticas según el método utilizado en nuestro laboratorio (VetTest®, IDEXX Laboratories)

4.4. MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

La presión arterial fue medida en todos los perros de forma no invasiva mediante el método ultrasónico (método Doppler). La unidad utilizada fue un Doppler Flor Detector (Model 811-B), Aloha, OR, fabricada por Parks Medical Electronics, que detecta el flujo de sangre a través de un ruido audible en un altavoz. Esta medición fue realizada tras la exploración y toma de muestras sanguíneas para laboratorio y una vez transcurridos unos 30 minutos para la aclimatación del paciente.

El pelo del paciente se rasuró justo por encima del cojín metatarsiano plantar de la extremidad posterior izquierda, hasta conseguir una zona sin pelo de un tamaño superior al de la sonda. Posteriormente, colocamos un manguito de presión arterial de tamaño apropiado al cuerpo de cada paciente, cuya anchura fuese aproximadamente equivalente al 40% de la circunferencia de la extremidad, en posición proximal respecto a la sonda de flujo (por debajo del corvejón). Este manguito va unido a un esfigmomanómetro aneroide calibrado en mmHg. El manguito se ajustó correctamente y se centró sobre la arteria de mayor calibre que transcurre a ese nivel, la tibial caudal.

Una vez colocado el manguito, lo sujetamos con esparadrapo para evitar que se aflojara. Aplicamos gel ultrasónico en la porción cóncava de la sonda y sobre la zona rasurada del paciente. A continuación conectamos el amplificador y la sonda, la cual se manipuló hasta oír con claridad el sonido generado por el flujo sanguíneo arterial. Cuando escuchamos este sonido procedimos al inflado del manguito hasta conseguir la desaparición del sonido, y por tanto el cese del flujo arterial. Abrimos gradualmente la válvula del manómetro desinflando con lentitud el manguito hasta el punto en el que se restablece el flujo y escuchamos de nuevo el primer silbido, que corresponde a la presión arterial sistólica.

Para una mayor exactitud obtuvimos cinco medidas de cada animal, descartando los valores extremos y tomando como valor definitivo la media de las tres restantes. Todas las mediciones fueron realizadas con el animal en decúbito lateral, lo más relajado posible y sometido a las mínimas medidas de control posibles. En ningún caso recurrimos a la sedación química del paciente.

4.5. ECOGRAFÍA ABDOMINAL

Después del examen físico, la extracción de sangre, la medición de la presión arterial y descartada la posibilidad de la existencia de cualquier otra enfermedad concurrente, realizamos la ecografía abdominal a 72 de los 104 perros estudiados. Estas ecografías fueron llevadas a cabo en el Servicio de Diagnóstico por Imagen de nuestro Hospital, previa obtención del consentimiento de los propietarios. La razón de no haber realizado el examen ecográfico a la totalidad de los animales incluidos en el estudio obedece a la falta del citado consentimiento, o bien, a que la gravedad del estado del paciente desaconsejaba su realización.

4.5.1. ECÓGRAFO

Para la realización de este estudio hemos utilizado un ecógrafo MyLab 70® (ESAOTE, Italia), el cual nos proporciona una alta resolución mediante la adquisición de imágenes en modo B, modo M, Doppler espectral de onda pulsada, onda continua y Doppler color.

En nuestro caso utilizamos dos sondas de alta resolución, una microconvex y una lineal, con función multifrecuencia que emiten entre 3 y 9 MHz y 4 y 13 MHz respectivamente. La frecuencia de ultrasonido de 7,5 MHz nos permitió alcanzar en la mayoría de los perros un grado de penetración suficiente, con muy buena resolución, a nivel de todos los órganos objeto de estudio. En alguna ocasión, en perros muy grandes, para optimizar la visualización del hígado seleccionamos la frecuencia de 5 MHz con la sonda microconvex, que proporciona una mayor capacidad de penetración.

4.5.2. TÉCNICA DE EXPLORACIÓN

El examen ecográfico lo llevamos a cabo sin someter a los animales a ningún tipo de tranquilización o anestesia. Todas las ecografías fueron realizadas en una sala destinada exclusivamente a este fin, con los animales sobre una colchoneta situada encima de una mesa de exploración adecuada.

Para efectuar un examen cuidadoso y completo, el primer paso fue rasurar el abdomen del paciente. Tras la colocación del perro en el decúbito apropiado se aplicó gel acústico sobre la piel de la zona a explorar para facilitar la transmisión de los ultrasonidos.

En decúbito lateral derecho realizamos la exploración del bazo y del riñón izquierdo y, posteriormente, con el perro en decúbito lateral izquierdo exploramos el riñón derecho y, en algunos animales iniciamos el examen del hígado.

Posteriormente, con el animal en decúbito dorsal exploramos el hígado y completamos el estudio de los otros órganos cuando fue necesario.

4.5.2.1. BAZO

Para la exploración del bazo, debido a su posición superficial y a su escaso espesor, seleccionamos una frecuencia de 7,5 MHz. Valoramos su situación, el tamaño, la forma y la ecotextura esplénica mediante el seguimiento continuado del órgano en cortes longitudinales y transversales.

También observamos las interfases hígado-bazo y riñón-bazo, lo que nos permite comparar objetivamente la ecogenicidad del bazo con la del hígado y con la del riñón. Para describir la existencia o no de esplenomegalia valoramos tanto el grosor esplénico cerca del hilio como el contorno del órgano.

4.5.2.2. HÍGADO

Para la exploración hepática utilizamos frecuencias de 7,5 MHz en la mayoría de los casos, aunque en perros de razas muy grandes o animales muy obesos tuvimos que seleccionar frecuencias más bajas.

Colocamos al animal en decúbito supino. Situamos el transductor caudalmente al proceso xifoides y al arco costal para realizar barridos longitudinales y transversales. Presionamos ligeramente la pared abdominal, orientando el transductor, de forma que los ultrasonidos lleguen al hígado en un ángulo aproximado de 90°. En perros de tórax profundo completamos el estudio con un abordaje intercostal.

La ecogenicidad hepática la determinamos comparándola con la de órganos de referencia, como son el bazo y la corteza renal. La estimación del tamaño hepático se llevó a cabo de manera subjetiva, teniendo en cuenta las diferencias de raza y conformación corporal, así como determinados criterios establecidos como son la distancia entre el diafragma y el estómago, la extensión del hígado ventralmente al estómago o ventralmente al riñón derecho y la existencia o no de márgenes hepáticos redondeados.

4.5.2.3. RIÑONES

Para la exploración renal utilizamos, en la mayoría de los casos, la sonda de 7,5 MHz. Acoplamos el transductor lateralmente, por detrás del arco costal, realizando cortes longitudinales y transversales del órgano.

En el estudio ecográfico valoramos la situación, el tamaño y la estructura interna del parénquima renal y estimamos su ecogenicidad respecto al hígado y al bazo para reconocer las principales alteraciones. A la hora de valorar la hemodinámica renal utilizamos el Doppler color para la visualización de la vascularización intrarrenal y, posteriormente, mediante el Doppler de onda pulsada medimos el flujo sanguíneo arterial, utilizando un volumen de muestra de 1,5-4 mm y una frecuencia de 5-7,5 MHz. Todos los flujos Doppler espectrales fueron registrados después de conseguir, al menos, tres ondas pulsátiles sucesivas de forma similar. Los valores de los índices de resistencia y de los índices de pulsatilidad para cada riñón fueron obtenidos mediante la media de 5 lecturas realizadas en arterias interlobares o arcuatas, descartando siempre los valores extremos. Todas las variables Doppler fueron determinadas mediante el propio software del ecógrafo, previa delimitación manual del pico sistólico y de la velocidad diastólica final.

4.6. TRATAMIENTO DE LOS ANIMALES ENFERMOS

Todos los perros fueron tratados con un fármaco babesicida específico, el dipropionato de imidocarb (Imizol®), a dosis de 5 mg/kg por vía SC, previa administración de atropina, 0,05 mg/kg por vía SC, 15-20 minutos antes de la inyección del agente babesicida.

También se instauró un tratamiento sintomático (fluidoterapia, transfusiones sanguíneas, oxigenoterapia, etc.) en todos aquellos casos en los que fue necesario. En ningún caso se recurrió a la utilización de glucocorticoides.

A los 14 días de este primer tratamiento se administró una segunda dosis de dipropionato de imidocarb, siguiendo la misma pauta que en la anterior.

4.7. REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES ENFERMOS

Previamente a la administración de la segunda dosis de dipropionato de imidocarb, es decir, a los 14 días del diagnóstico, se realizó una revisión de todos aquellos pacientes en los que nos fue posible. Esto supuso un total de 57 perros, a los cuales se les volvió a efectuar una exploración clínica completa, una hematología, una bioquímica sérica, se les midió la presión arterial y, en 32 de ellos, también se repitió el examen ecográfico del abdomen.

4.8. GRUPO CONTROL

Como grupo control en este trabajo hemos empleado 7 perros Beagle adultos con una edad media de 2 años (2 ± 1 año) y un peso medio de 14,5 kg ($14,5 \pm 3,74$). Todos los perros procedían de un establecimiento homologado para la cría de animales de experimentación y fueron mantenidos posteriormente en nuestro centro hasta la realización de este estudio.

Este trabajo se realizó cumpliendo las normas establecidas en el RD1201/2005, publicado el 10 de Octubre de 2005, relativo a la protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

Durante el periodo de estancia en el Hospital Veterinario Universitario Rof Codina los perros recibieron las vacunas anuales y la desparasitación trimestral pertinente. Antes de la introducción en el estudio se les realizó una exploración clínica detallada y un estudio hematológico y bioquímico, donde se confirmó su perfecto estado de salud. Posteriormente se les midió la presión arterial y se llevó a cabo la ecografía abdominal, siguiendo las mismas pautas descritas en apartados anteriores para los perros con babesiosis.

4.9. MÉTODO ESTADÍSTICO

Para el procesado estadístico de los resultados empleamos el programa estadístico SPSS 15.0 para Windows® (Chicago, EE.UU.), con licencia concedida a la Universidad de Santiago de Compostela.

Se ha empleado el análisis de varianza de un factor, con el objeto de comprobar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos (babesiosis complicada/ babesiosis no complicada grave/ babesiosis no complicada leve), considerándose estadísticamente significativos todos los valores de p menores de 0,05, con un nivel de significación del 95%.

Cuando se detectaron diferencias significativas, para realizar las comparaciones múltiples entre grupos se eligió la prueba de Tukey, valorando previamente la homogeneidad de las varianzas con el estadístico de Levene.

También hemos utilizado el test T para comprobar la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas entre el riñón izquierdo y el derecho a la hora de valorar los índices de resistencia y los índices de pulsatilidad renales, así como la presencia o no de diferencias significativas para estos índices entre los perros del grupo control y los enfermos de babesiosis.

Para favorecer una interpretación más visual de los resultados los hemos expuesto en gráficas de sectores y de caja. Las características de éstas últimas son:

- La altura de la caja representa la amplitud intercuartil (IQR), en ella está representada el 50% de la muestra.
- El borde superior de la caja es el percentil 75.
- El borde inferior es el percentil 25.
- La línea central de la caja es la mediana.
- Con una O se marcan los casos entre 1,5 y 3 IQR del extremo de la caja
- Con un asterisco se marcan los casos que están a más de 3 IQR del extremo de la caja, a éstos se les denomina casos extremos.

A su vez, para una mejor comprensión de los resultados, figuran en color rojo aquellos valores medios que están situados fuera del rango normal de referencia para esta especie.

RESULTADOS

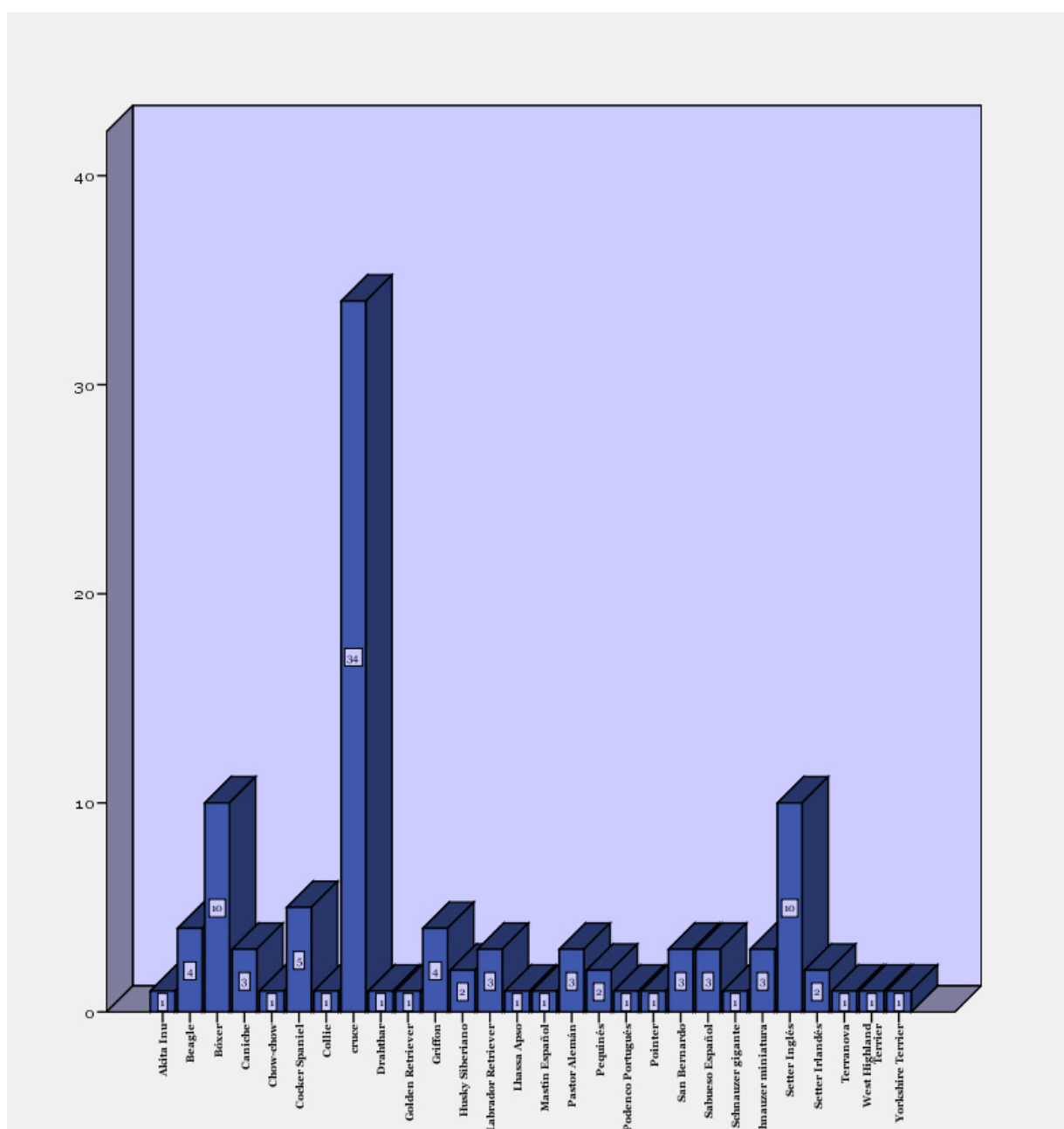
5. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este trabajo los hemos representado ordenados y esquematizados en forma de tablas y gráficas. Además, con el fin de facilitar su comprensión, los organizamos en distintos apartados:

- 5.1. Resultados globales
- 5.2. Resultados obtenidos en función del grado de complicación
- 5.3. Resultados obtenidos en la reevaluación de los animales
- 5.4. Resultados obtenidos en función de la supervivencia

5.1. RESULTADOS GLOBALES

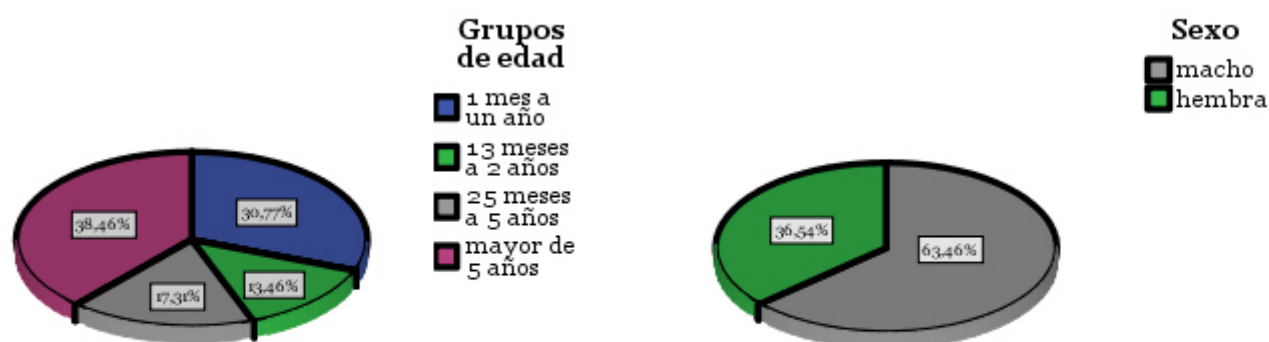
Estos resultados corresponden a 104 perros diagnosticados de babesiosis, todos ellos infectados por *Babesia canis*, distribuidos según las siguientes razas:



Gráfica 1: Distribución por razas de los perros diagnosticados de babesiosis en este estudio

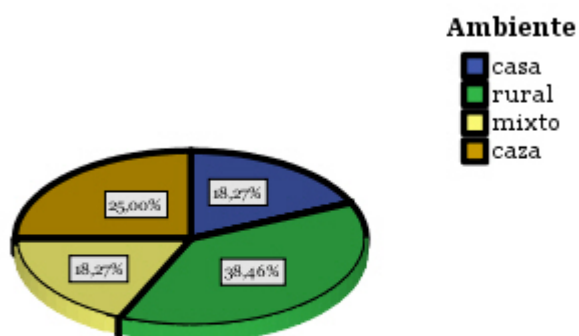
Como se puede apreciar, son los perros mestizos los que suponen un mayor porcentaje en el estudio, siendo un 32,69% del total, mientras que las razas más representadas son el Bóxer y el Setter Inglés, con un 9,61% cada una.

Así mismo, los animales incluidos en este estudio han sido clasificados en función de su edad, sexo y de su ambiente:



Gráfica 2: Distribución de los pacientes por grupos de edad

Gráfica 3: Distribución de los pacientes por sexo



Gráfica 4: Distribución de los pacientes por su ambiente

Según muestran las gráficas 2, 3 y 4 fueron los animales mayores de 5 años, machos y de ambiente rural los que representaron un mayor porcentaje en nuestro estudio.

En este trabajo hemos agrupado las distintas variables estudiadas en cuatro grupos, de manera que nos permiten realizar una evaluación clínica, hematológica, bioquímica y ecográfica de los pacientes (tabla 12):

VARIABLES ESTUDIADAS	
1. Con valor clínico	Edad, peso, temperatura corporal, presión arterial y reflejo abdominal.
2. Hematológicas	Hct, RBC, Hb, MCV, MCH, MCHC, RDW, recuento absoluto de reticulocitos, porcentaje de reticulocitos, valor absoluto de reticulocitos corregido, WBC, recuento absoluto de linfocitos, recuento absoluto de monocitos, recuento absoluto de neutrófilos, recuento absoluto de eosinófilos, recuento absoluto de basófilos, recuento absoluto de plaquetas, MPV y PDW.
3. Bioquímicas	ALP, ALT, BILT, BUN, CREA, GLU y PT.
4. Ecográficas	Lesiones esplénicas, lesiones hepáticas y lesiones renales.

Tabla 12: Descripción de las variables estudiadas en cada paciente

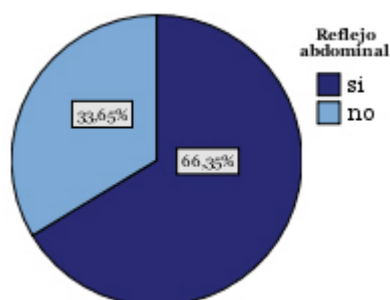
5.1.1. VARIABLES CON VALOR CLÍNICO

A continuación exponemos las medias obtenidas para cada una de las variables estudiadas con sus correspondientes errores estándar (tabla 13).

VARIABLES CON VALOR CLÍNICO					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Edad (años)	3,91	3,00	3,502	0,3	14
Peso (kg)	20,22	18,15	12,276	2,4	53,0
Temperatura (°C)	39,32	39,40	0,989	36,40	41,43
Presión arterial (mmHg)	116,39	115,00	30,277	60	220

Tabla 13: Valores medios de las variables con valor clínico de los 104 perros afectados de babesiosis

Sesenta y nueve de los 104 perros incluidos en el estudio presentaban un reflejo doloroso a la palpación abdominal, por lo que su prevalencia fue de 66,35% (gráfica 5).



Gráfica 5: Porcentaje de perros con babesiosis que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal

Como podemos observar en la tabla 13 y en la gráfica 5, por lo general, los perros enfermos de babesiosis estudiados fueron perros adultos ($3,91 \pm 3,502$ años), de raza grande ($20,22 \pm 12,276$ kg) que presentaban un ligero incremento de la temperatura corporal ($39,32 \pm 0,989$ °C), valores normales de la presión arterial ($116,39 \pm 30,277$ mmHg) y un dolor agudo a la palpación abdominal. No obstante, es importante destacar que 48 de los animales presentaban una temperatura corporal superior a los 39,5 °C (46,15%), mientras que 5 de ellos tenían hipotermia, con valores inferiores a 37,5 °C (4,81%). La presión arterial sistólica presentó valores muy variables, aunque la hipotensión fue el hallazgo más destacable con 26 de los perros con valores inferiores a los 100 mmHg (25,00%), estando 4 de ellos por debajo de los 70 mmHg (3,85%). La hipertensión, con valores superiores a los 200 mmHg, sólo apareció en 2 pacientes que presentaban fallo renal secundario a la babesiosis canina.

5.1.2. VARIABLES HEMATOLÓGICAS

Exponemos a continuación los resultados obtenidos para los parámetros hematológicos de todos los animales afectados (tabla 14):

VARIABLES HEMATOLÓGICAS					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Hct (%)	26,67	27,25	9,818	7,8	45,5
RBC (millones/ μ l)	4,05	4,21	1,459	1,28	6,88
Hb (g/dl)	11,45	11,35	3,886	3,9	20,4
MCV (fL)	65,56	65,70	3,445	52,5	76,4
MCH (pg)	29,19	27,94	5,767	18,47	52,51
MCHC (g/dl)	37,19	37,4	1,508	34,0	39,5
RDW (%)	16,87	15,95	2,070	14,4	22,7
Recuento reticulocitos (miles/ μ l)	46,15	26,45	43,598	10,0	202,9
% de reticulocitos	1,72	0,60	2,643	0,2	13,8
Valor absoluto reticulocitos corregido (miles/ μ l)	14,27	11,55	9,521	1,37	46,92
WBC (miles/ μ l)	6,90	5,16	4,753	1,68	24,36
Recuento linfocitos (miles/ μ l)	1,44	1,18	0,959	0,26	4,73
Recuento monocitos (miles/ μ l)	0,95	0,77	0,707	0,04	4,41
Recuento neutrófilos (miles/ μ l)	4,08	2,99	3,540	0,71	18,89
Recuento eosinófilos (miles/ μ l)	0,24	0,17	0,216	0,02	1,29
Recuento basófilos (miles/ μ l)	0,04	0,03	0,026	0,01	0,13
Recuento plaquetas (miles/ μ l)	49,95	35,00	46,361	12	324
MPV (fL)	18,58	18,91	5,033	7,35	28,34
PDW (%)	28,30	27,90	3,586	20,5	37,3

Tabla 14: Valores medios de los parámetros hematológicos de los 104 perros afectados de babesiosis

Las medias de la serie roja (tabla 14) muestran que los pacientes se presentaban en la consulta con un descenso del recuento total de eritrocitos ($4,05 \pm 1,459$ millones/ μ l), del valor hematocrito ($26,67 \pm 9,818$) y de la concentración de hemoglobina ($11,45 \pm 3,886$ g/dl). Así, 89 de los 104 perros mostraban anemia en el momento del diagnóstico, lo que equivale a un 85,58%, de los cuales 32, un 35,95%, presentaban una anemia grave con un hematocrito inferior al 20%. Estos descensos, junto con los valores medios del MCV ($65,56 \pm 3,445$ fL), MCH ($29,19 \pm 5,767$ pg), MCHC ($37,19 \pm 1,508$ g/dl), RDW ($16,87 \pm 2,070$) y el valor absoluto medio de reticulocitos corregido ($14,26 \pm 11,555$ reticulocitos/ml), nos confirman que estamos ante una anemia normocítica, normocrómica y arregenerativa.

Los valores medios de la serie blanca están dentro del rango considerado como normal en el perro. No obstante, es importante señalar que 54 de los 104 perros estudiados (51,90%) presentaban leucopenia en el momento del diagnóstico de la enfermedad. La neutropenia con un 26,07%, la eosinopenia con un 23,87% y la linfopenia con un 12,54% también fueron relativamente frecuentes en el estudio. La leucocitosis apareció en un 6,71% de los perros, mientras que la neutrofilia y la monocitosis con una prevalencia del 6,71% y 8,70% respectivamente, fueron el resto de hallazgos destacables.

El recuento medio de plaquetas que hemos obtenido en este estudio ($49,95 \pm 46,361 \times 10^3$ plaquetas/ μ l) está muy por debajo del valor considerado como normal en el perro. Furlanello *et al.* (2005) ha clasificado las trombocitopenias como graves ($<25 \times 10^3$ plaquetas/ μ l), moderadas ($49-25 \times 10^3$ plaquetas/ μ l), leves ($99-50 \times 10^3$ plaquetas/ μ l) y muy leves ($142-100 \times 10^3$ plaquetas/ μ l). Si dividimos nuestros pacientes por grupos basándonos en esta clasificación 28 de ellos tenían una trombocitopenia grave (26,92%), 42 moderada (40,38%), 26 leve (25,00%), 1 muy leve (0,96%) y 7 tendrían un número normal de plaquetas (6,73%). Sin embargo, en función de los límites establecidos por nuestro laboratorio, únicamente 3 de los pacientes presentaban un recuento normal del número de plaquetas (2,88%).

En cuanto a los índices plaquetarios tanto los valores medios del MPV ($18,58 \pm 5,033$ fL) como del PDW ($28,30 \pm 3,586$ %) están claramente incrementados. Diecisiete de los pacientes mostraron valores normales del MPV (16,35%), mientras que el PDW apareció elevado en todos los animales estudiados.

5.1.3. VARIABLES BIOQUÍMICAS

La tabla 15 recoge los valores medios de los parámetros bioquímicos estudiados:

VARIABLES PLASMÁTICAS					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
ALP (U/l)	162,41	130,00	101,500	48	600
ALT (U/l)	76,67	52,50	74,185	10	380
BILT (mg/dl)	0,77	0,30	0,952	0,1	3,7
BUN (mg/dl)	42,53	25,50	36,665	9,9	130,0
CREA (mg/dl)	1,15	0,90	1,049	0,3	6,8
GLU (mg/dl)	114,02	106,00	30,327	57	254
PT (g/dl)	6,59	6,50	1,255	3,6	11,2

Tabla 15: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los 104 perros afectados de babesiosis

Los valores medios de la bioquímica sérica se mantienen dentro de los considerados como normales en el perro, a excepción de un leve aumento del nitrógeno ureico sanguíneo. Sin embargo, los valores de estos parámetros fueron muy variables en función de cada individuo, como muestran los mínimos y máximos encontrados. Abordaremos estos resultados en profundidad en la división por grupos de los pacientes.

5.1.4. VARIABLES ECOGRÁFICAS

5.1.4.1. RESULTADOS ECOGRÁFICOS DEL GRUPO CONTROL

Los perros que conformaron el grupo control no mostraron ninguna lesión diagnosticable ecográficamente en ninguno de los principales órganos abdominales.

A continuación exponemos los resultados medios, con sus respectivos errores estándar, del estudio hemodinámico llevado a cabo en los 7 perros de raza Beagle (tabla 16):

HEMODINÁMICA RENAL (GRUPO CONTROL)						
	n	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
IR del riñón izquierdo	7	0,616	0,59	0,056	0,55	0,70
IP del riñón izquierdo	7	1,034	0,960	0,169	0,85	1,28
IR del riñón derecho	7	0,621	0,630	0,028	0,58	0,65
IP del riñón derecho	7	1,080	1,040	0,126	0,92	1,25

Tabla 16: Valores medios de la hemodinámica renal de los perros pertenecientes al grupo control

No hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas ni para los valores de los índices de resistencia ni de los índices de pulsatilidad entre el riñón izquierdo y el derecho de los pacientes del grupo control. Estos valores medios están dentro de los considerados normales por los distintos autores (Nyland *et al.*, 1993; Morrow *et al.*, 1996; Novellas *et al.*, 2007).

5.1.4.2. RESULTADOS ECOGRÁFICOS DE LOS PACIENTES CON BABESIOSIS

En este estudio se realizó la ecografía abdominal a 72 perros enfermos de babesiosis. En la siguiente tabla (tabla 17) se muestra el número de animales que presentaban lesiones esplénicas, hepáticas y/o renales:

VARIABLES ECOGRÁFICAS			
LESIONES ESPLÉNICAS	Difusas	Esplenomegalia difusa	57
		Alteraciones de la ecotextura	63
		Alteraciones de la ecogenicidad	54
	Focales		0
LESIONES HEPÁTICAS	Difusas	Hepatomegalia	16
		Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	19
	Focales		0
LESIONES RENALES	Difusas	Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	34
	Focales		0

Tabla 17: Número de animales afectados de babesiosis que presentaban lesiones en la exploración ecográfica

Debemos resaltar que las lesiones observadas en los riñones siempre fueron bilaterales.

A continuación, en la tabla 18, exponemos la prevalencia de cada una de las lesiones:

	PREVALENCIA
LESIONES ESPLÉNICAS	87,5%
LESIONES HEPÁTICAS	29,2%
LESIONES RENALES	47,2%

Tabla 18: Prevalencia de las distintas lesiones ecográficas en los órganos estudiados

Como podemos constatar son las lesiones esplénicas difusas, con casi un 90%, las que presentan una mayor prevalencia, seguidas de las lesiones renales difusas, que fueron observadas prácticamente en la mitad de los perros estudiados, mientras que las lesiones hepáticas difusas fueron apreciadas únicamente en un 29% de los animales enfermos. Resaltar que ningún perro presentó lesiones focales en los órganos abdominales estudiados (tabla 17).

En cuanto a la hemodinámica renal de los animales enfermos los resultados obtenidos fueron los siguientes (tabla 19):

HEMODINÁMICA RENAL						
	n	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
IR del riñón izquierdo	72	0,686*	0,675	0,080	0,52	0,89
IP del riñón izquierdo	25	1,519*	1,380	0,555	0,88	2,98
IR del riñón derecho	72	0,688*	0,690	0,077	0,47	0,90
IP del riñón derecho	25	1,474*	1,420	0,464	0,92	2,78

Tabla 19: Valores medios de la hemodinámica renal de los pacientes con babesiosis. (*) diferencias significativas respecto al grupo control

No hemos encontrado diferencias significativas entre los índices de resistencia y de pulsatilidad del riñón derecho e izquierdo. Sin embargo, sí existen diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes del grupo control y los perros con babesiosis. Es importante destacar que los valores medios de estos índices en los perros afectados de babesiosis se encuentran incrementados con respecto a los considerados como fisiológicos por los distintos autores (Nyland *et al.*, 1993; Morrow *et al.*, 1996; Novellas *et al.*, 2007).

5.2. RESULTADOS OBTENIDOS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN

En este estudio hemos incluido un total de 104 perros, de los cuales, 26 padecían babesiosis complicada (25,00%), 22 babesiosis no complicada grave (21,15%) y 56 babesiosis no complicada leve (53,85%). De los 26 perros con babesiosis complicada 11 presentaban fallo hepático, 7 fallo renal, 3 signos neurológicos, 4 fallo renal y fallo hepático y 1 edema pulmonar y fallo hepático.

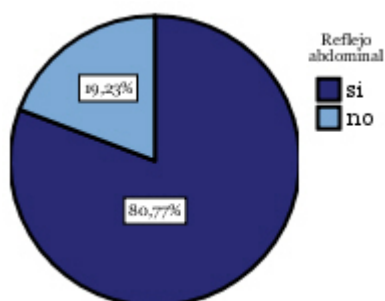
5.2.1. VARIABLES CON VALOR CLÍNICO

A continuación se exponen los valores obtenidos en cada uno de los grupos para las variables clínicas estudiadas (tablas 20-22).

BABESIOSIS COMPLICADA					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Edad (años)	5,69*	5,5	3,899	0,5	14
Peso (kg)	16,95	15	9,863	2,4	44
Temperatura (°C)	38,76#	39,09	1,282	36,40	41,43
Presión arterial (mmHg)	117,31	112,50	43,32	65	220

Tabla 20: Valores medios de las variables con valor clínico de los pacientes con babesiosis complicada. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada grave ($p < 0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada leve ($p < 0,05$)

De los 26 perros que presentaban babesiosis complicada 21 de ellos tenían un reflejo doloroso a la palpación abdominal y tan sólo 5 no mostraban ningún dolor (gráfica 6).



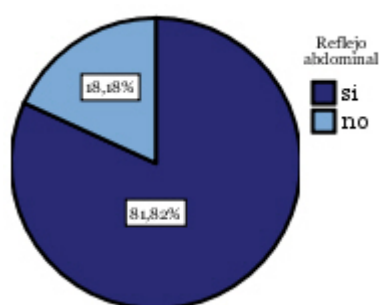
Gráfica 6: Porcentaje de perros con babesiosis complicada que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal

En el caso de los perros con babesiosis no complicada grave los valores medios de edad, peso, temperatura corporal y presión arterial fueron los siguientes (tabla 21):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Edad (años)	1,66*#	0,75	2,243	0,3	7,0
Peso (kg)	17,07	10,00	16,524	2,5	53,0
Temperatura (°C)	39,29	39,20	0,712	37,59	40,58
Presión arterial (mmHg)	110,91	107,50	29,384	60	180

Tabla 21: Valores medios de las variables con valor clínico de los pacientes con babesiosis no complicada grave. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis complicada ($p < 0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada leve ($p < 0,05$)

Dieciocho de los 22 perros con babesiosis no complicada grave presentaban un reflejo doloroso a la palpación abdominal, representando un porcentaje del 80,77% (gráfica 7).



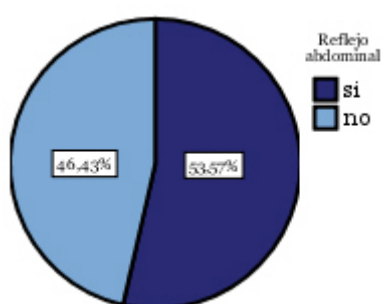
Gráfica 7: Porcentaje de perros con babesiosis no complicada grave que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal

En el caso de los pacientes con babesiosis no complicada leve los valores de las variables con valor clínico fueron los siguientes (tabla 22):

BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Edad (años)	3,97 [#]	3,00	3,258	0,5	13,0
Peso (kg)	22,97	23,75	10,817	5,0	50,0
Temperatura (°C)	39,66 [*]	39,785	0,662	38,09	40,96
Presión arterial (mmHg)	118,13	120,00	22,775	70	185

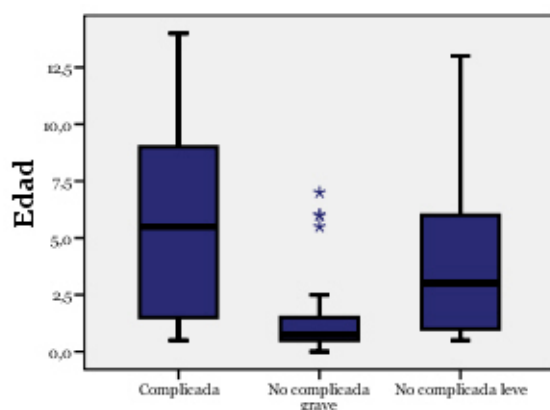
Tabla 22: Valores medios de las variables con valor clínico de los pacientes con babesiosis no complicada leve. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis complicada ($p<0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada grave ($p<0,05$)

En este grupo el porcentaje de pacientes con reflejo doloroso a la palpación abdominal fue sensiblemente inferior a los dos anteriores, presentándose en 30 de los 56 pacientes explorados, lo que supone un 53,57% (gráfica 8):

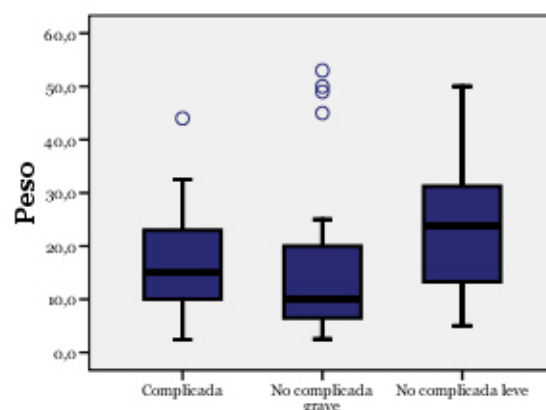


Gráfica 8: Porcentaje de perros con babesiosis no complicada leve que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal

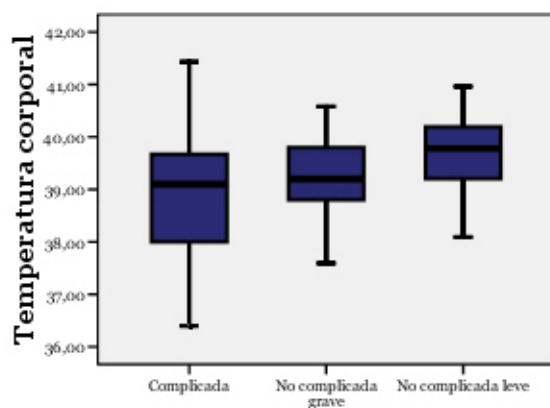
A continuación, para favorecer la interpretación visual de los resultados, mostramos los diagramas de caja correspondientes a la edad, el peso, la temperatura corporal y la presión arterial de los tres grupos estudiados (gráficas 9-12):



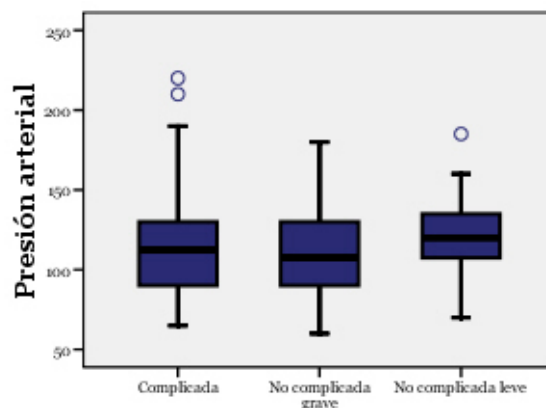
Gráfica 9: Distribución de la edad en función del grado de complicación



Gráfica 10: Distribución del peso en función del grado de complicación



Gráfica 11: Distribución de la temperatura corporal en función del grado de complicación



Gráfica 12: Distribución de la presión arterial en función del grado de complicación

Como podemos observar en las tablas 20, 21 y 22 y en la gráfica 9, la babesiosis no complicada grave afectó principalmente a los animales más jóvenes, existiendo diferencias estadísticamente significativas con los otros dos grupos ($p < 0,05$). Los perros con babesiosis complicada son los que presentaron una media de edad más elevada en el estudio.

En el caso de la temperatura corporal (tablas 20-22 y gráfica 11) fueron los pacientes con babesiosis no complicada leve los que registraron un mayor aumento de la misma, presentando diferencias significativas con el grupo de babesiosis complicada ($p<0,05$). Así, 8 de los pacientes con babesiosis complicada mostraban una temperatura corporal superior a los 39,5 °C (30,77%), 8 con babesiosis no complicada grave (36,36%) y 32 con babesiosis no complicada leve (57,14%). También es importante destacar que los 5 pacientes con una temperatura inferior a 37,5 °C pertenecían al grupo de pacientes con babesiosis complicada (19,23%).

Por el contrario, las variables peso y presión arterial presentan unos valores similares en los tres grupos (tablas 20-22 y gráficas 10 y 12), no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p>0,05$). No obstante, en el caso de la presión arterial, si tenemos en cuenta el valor de corte de 100 mmHg establecido por Erhardt *et al.* (2003) para la hipotensión (tabla 6), nos encontramos con que 10 de los perros con babesiosis complicada padecían hipotensión (38,46%), 7 de los perros con babesiosis no complicada grave (31,82%) y 9 con babesiosis no complicada leve (16,07%); mientras que únicamente 2 de los pacientes que pertenecían al grupo con babesiosis complicada padecían hipertensión (7,69%), en función de los límites establecidos por Stepień (2000) (tabla 4).

El dolor abdominal fue un hallazgo frecuente en los tres grupos, pero fueron los perros con babesiosis complicada y no complicada grave los que presentaron una mayor prevalencia.

5.2.2. VARIABLES HEMATOLÓGICAS

Los resultados obtenidos en los distintos grupos respecto a los parámetros hematológicos fueron los siguientes (tablas 23-25):

BABESIOSIS COMPLICADA					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Hct (%)	21,88*#	21,65	8,175	8,9	36,5
RBC (millones/ μ l)	3,31*#	3,39	1,170	1,36	5,30
Hb (g/dl)	9,50*#	9,50	3,781	3,9	19,9
MCV (fL)	65,65	65,45	2,618	60,2	72,4
MCH (pg)	28,74*	27,48	4,862	23,60	44,28
MCHC (g/dl)	36,47	37,10	1,457	34,8	37,5
RDW (%)	17,12*#	16,05	2,101	14,9	21,4
Recuento reticulocitos (miles/ μ l)	50,68*#	29,95	47,323	10,0	202,9
% de reticulocitos	2,13*#	0,70	2,986	0,3	13,0
Valor absoluto reticulocitos corregido (miles/ μ l)	11,57	9,04	8,794	1,74	34,95
WBC (miles/ μ l)	8,71#	5,63	6,776	1,68	24,36
Recuento linfocitos (miles/ μ l)	1,33	0,88	1,116	0,38	4,30
Recuento monocitos (miles/ μ l)	1,25#	0,85	1,013	0,23	4,41
Recuento neutrófilos (miles/ μ l)	5,70#	4,20	5,215	0,98	18,78
Recuento eosinófilos (miles/ μ l)	0,33#	0,25	0,316	0,02	1,29
Recuento basófilos (miles/ μ l)	0,05#	0,04	0,036	0,01	0,13
Recuento plaquetas (miles/ μ l)	63,54	42,00	69,120	14	324
MPV (fL)	18,07*	17,18	5,271	9,79	27,57
PDW (%)	28,19	27,70	3,032	21,4	32,7

Tabla 23: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis complicada. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada grave ($p < 0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada leve ($p < 0,05$)

En cuanto a los pacientes con babesiosis no complicada grave tenemos (tabla 24):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Hct (%)	15,10 ^{*#}	15,65	3,738	7,8	19,8
RBC (millones/ μ l)	2,33 ^{*#}	2,28	0,604	1,28	3,20
Hb (g/dl)	7,54 ^{*#}	7,40	1,413	5,1	10,4
MCV (fL)	65,03	65,05	4,865	56,4	76,4
MCH (pg)	34,09 ^{*#}	33,02	7,638	21,89	52,51
MCHC (g/dl)	36,85	36,95	1,403	34,1	39,5
RDW (%)	18,86 ^{*#}	18,50	2,348	15,4	22,7
Recuento reticulocitos (miles/ μ l)	82,37 ^{*#}	74,90	58,864	11,0	198,7
% de reticulocitos	4,05 ^{*#}	3,05	3,731	0,4	13,8
Valor absoluto reticulocitos corregido (miles/ μ l)	12,27	10,40	8,691	1,37	32,12
WBC (miles/ μ l)	8,29 [#]	6,77	4,846	1,93	19,49
Recuento linfocitos (miles/ μ l)	1,92 [#]	1,91	0,753	0,88	3,41
Recuento monocitos (miles/ μ l)	1,17 [#]	1,01	0,717	0,30	2,93
Recuento neutrófilos (miles/ μ l)	4,91	3,29	3,881	0,71	14,42
Recuento eosinófilos (miles/ μ l)	0,24	0,18	0,149	0,02	0,49
Recuento basófilos (miles/ μ l)	0,05 [#]	0,04	0,024	0,02	0,11
Recuento plaquetas (miles/ μ l)	60,55	41,00	46,761	12	148
MPV (fL)	22,79 ^{*#}	22,69	3,289	17,67	28,34
PDW (%)	28,94	28,69	3,361	24,8	37,3

Tabla 24: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis complicada ($p < 0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada leve ($p < 0,05$)

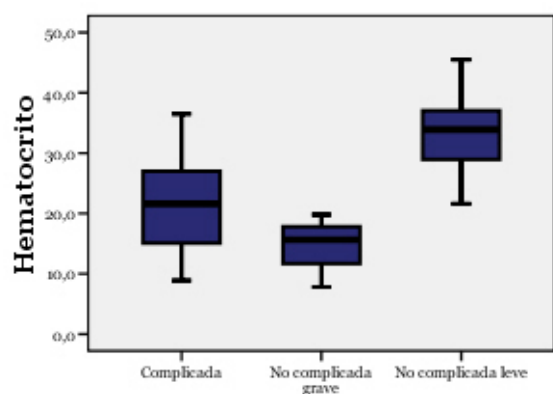
Y en el caso de los perros con babesiosis no complicada leve los valores hematológicos medios fueron los siguientes (tabla 25):

BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Hct (%)	33,44 ^{*#}	33,90	5,817	21,6	45,5
RBC (millones/ μ l)	5,08 ^{*#}	5,12	0,816	3,29	6,88
Hb (g/dl)	13,89 ^{*#}	13,8	2,650	9,0	20,4
MCV (fL)	65,72	65,95	3,117	52,5	71,0
MCH (pg)	27,48 [#]	26,28	4,073	18,47	40,32
MCHC (g/dl)	37,49	38,00	1,565	34,0	39,4
RDW (%)	15,97 ^{*#}	15,65	1,212	14,4	21,2
Recuento reticulocitos (miles/ μ l)	29,82 ^{*#}	23,50	20,312	12,7	106,4
% de reticulocitos	0,61 ^{*#}	0,45	0,453	0,2	2,1
Valor absoluto reticulocitos corregido (miles/ μ l)	16,30	13,55	9,826	4,62	46,92
WBC (miles/ μ l)	5,48 ^{*#}	4,92	2,866	2,28	21,51
Recuento linfocitos (miles/ μ l)	1,29 [#]	1,06	0,897	0,26	4,73
Recuento monocitos (miles/ μ l)	0,75 ^{*#}	0,66	0,427	0,04	2,29
Recuento neutrófilos (miles/ μ l)	3,24 [*]	2,71	2,498	1,26	18,89
Recuento eosinófilos (miles/ μ l)	0,21 [*]	0,17	0,167	0,03	0,80
Recuento basófilos (miles/ μ l)	0,03 ^{*#}	0,03	0,016	0,01	0,10
Recuento plaquetas (miles/ μ l)	39,48	32,50	27,836	12	176
MPV (fL)	17,48 [#]	16,88	4,877	7,35	27,82
PDW (%)	28,09	27,85	3,968	20,5	36,5

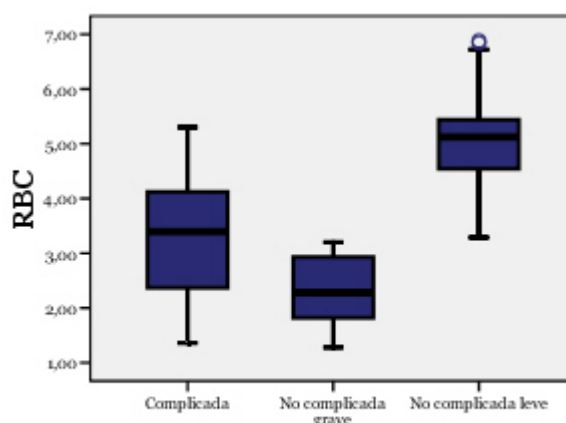
Tabla 25: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis no complicada leve. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis complicada ($p < 0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada grave ($p < 0,05$)

5.2.2.1. HEMATOCRITO, RECUENTO TOTAL DE GLÓBULOS ROJOS Y HEMOGLOBINA

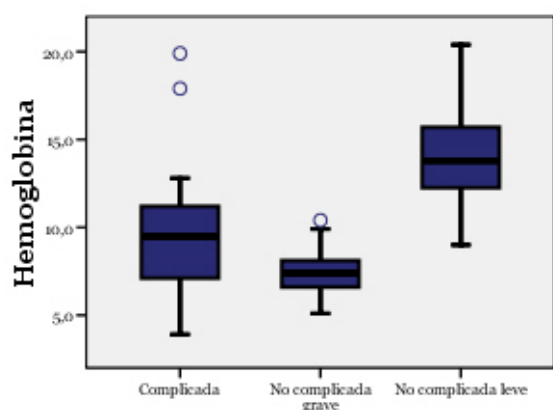
A continuación mostramos los diagramas de caja correspondientes al valor hematocrito, recuento total de glóbulos rojos y concentración de hemoglobina (gráficas 13-15):



Gráfica 13: Distribución del valor hematocrito en función del grado de complicación



Gráfica 14: Distribución del recuento total de glóbulos rojos en función del grado de complicación

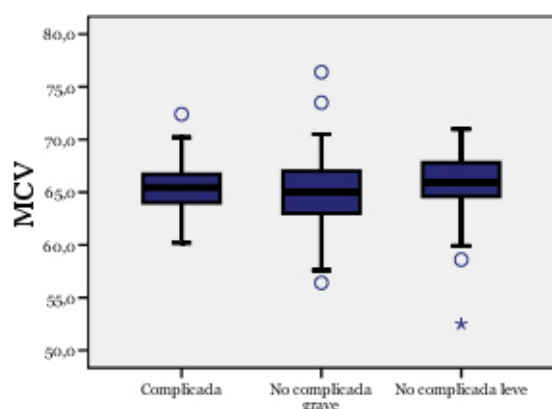


Gráfica 15: Distribución de la concentración de hemoglobina en función del grado de complicación

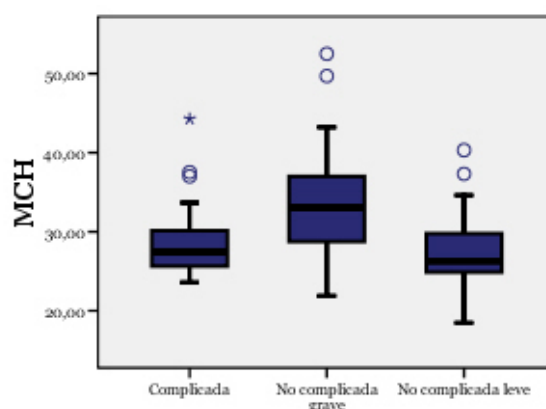
Como podemos observar en las tablas 23, 24 y 25 la anemia está presente en todos los grupos, con unos valores medios del recuento de glóbulos rojos, hematocrito y concentración de hemoglobina claramente inferiores al valor considerado como normal (tabla 9). Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tres grupos, tanto para los valores del hematocrito, del recuento total de glóbulos rojos y de la hemoglobina. Sin embargo, es importante destacar el elevado porcentaje de perros con anemia grave que hemos encontrado en nuestro estudio, un 30,77%, incluyendo 22 animales pertenecientes al grupo de babesiosis no complicada grave y 10 pacientes con babesiosis complicada.

5.2.2.2. VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO, HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA, CONCENTRACIÓN CORPUSCULAR MEDIA DE HEMOGLOBINA, ANCHO DE DISTRIBUCIÓN ERITROCITARIA, PORCENTAJE DE RETICULOCITOS, RECuento ABSOLUTO DE RETICULOCITOS Y VALOR ABSOLUTO DE RETICULOCITOS CORREGIDO

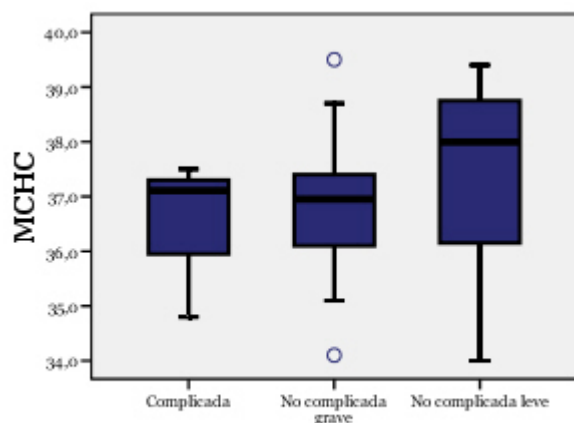
Realizamos los diagramas de caja correspondientes al volumen corpuscular medio, hemoglobina corpuscular media, concentración corpuscular media de hemoglobina, ancho de distribución eritrocitaria, porcentaje de reticulocitos, recuento absoluto de reticulocitos y valor absoluto de reticulocitos corregido (gráficas 16-22):



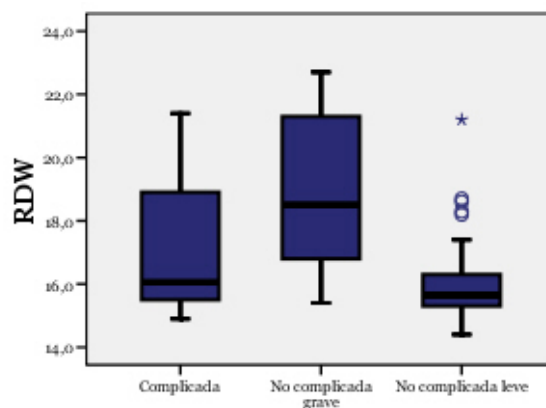
Gráfica 16: Distribución del volumen corpuscular medio en función del grado de complicación



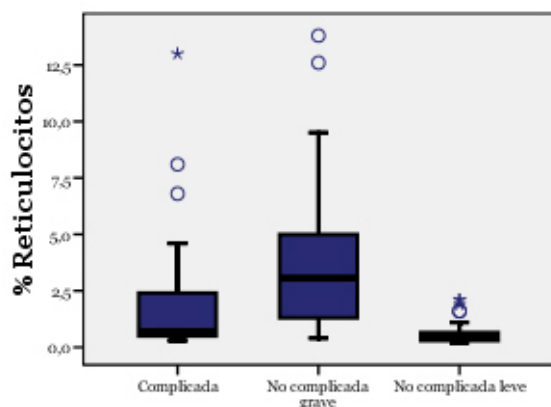
Gráfica 17: Distribución de la hemoglobina corpuscular media en función del grado de complicación



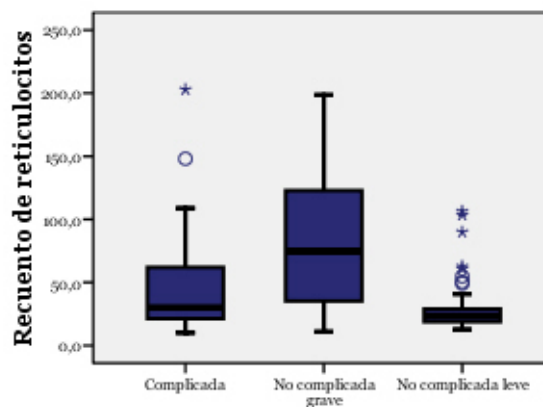
Gráfica 18: Distribución de la concentración corpuscular media de hemoglobina en función del grado de complicación



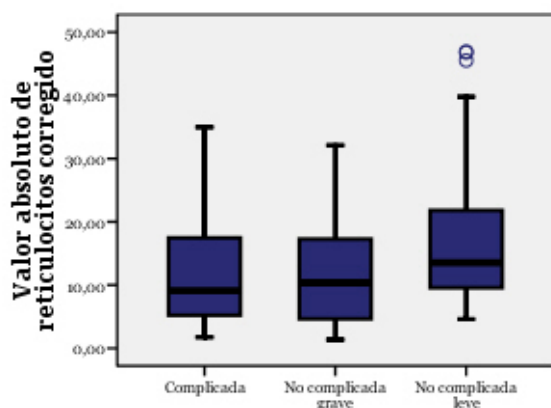
Gráfica 19: Distribución del ancho de distribución eritrocitaria en función del grado de complicación



Gráfica 20: Distribución del porcentaje de reticulocitos en función del grado de complicación



Gráfica 21: Distribución del recuento absoluto de reticulocitos en función del grado de complicación

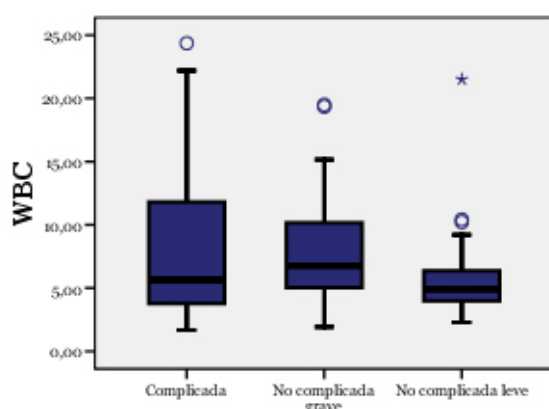


Gráfica 22: Distribución del valor absoluto de reticulocitos corregido en función del grado de complicación

Los valores medios de los índices eritrocitarios están dentro de los valores normales en los tres grupos (tablas 23-25 y gráficas 16-22), por lo que podemos afirmar que en todos los casos nos encontramos ante una anemia normocítica y normocrómica. En lo que respecta al grado de regeneración el grupo de pacientes con babesiosis no complicada grave presenta elevaciones importantes del porcentaje de reticulocitos, del recuento absoluto de reticulocitos y del ancho de distribución eritrocitaria. No obstante, si observamos el valor absoluto de reticulocitos corregido, podemos ver como en los tres casos es muy inferior a los 105.000 reticulocitos/ml, por lo que debemos afirmar que en los tres grupos la anemia es no regenerativa. Es importante destacar que en función de esta corrección de los reticulocitos establecida por Feldman (2007) ninguno de los pacientes con babesiosis de este estudio presentaba una anemia regenerativa.

5.2.2.3. RECUESTO TOTAL DE GLÓBULOS BLANCOS

En la gráfica 23 mostramos el diagrama de caja correspondiente al recuento total de glóbulos blancos:



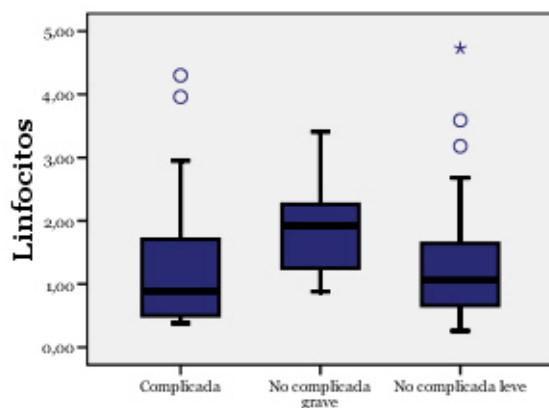
Gráfica 23: Distribución del recuento total de glóbulos blancos en función del grado de complicación

También procedimos para la serie blanca a la realización de un análisis de varianza de un factor de las variables estudiadas respecto a los tres grupos. Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los pacientes con babesiosis no complicada leve y los otros dos grupos. Así, la leucopenia apareció en el 46,15% de los pacientes con babesiosis complicada, en el 31,82% de los pacientes con babesiosis no complicada grave y en el 62,50% de los perros con babesiosis no complicada leve. En los dos primeros grupos los valores medios se encuentran dentro de los parámetros considerados como normales en el perro pero, en el caso de los pacientes con babesiosis no complicada leve, su valor medio reflejó leucopenia (tabla 25).

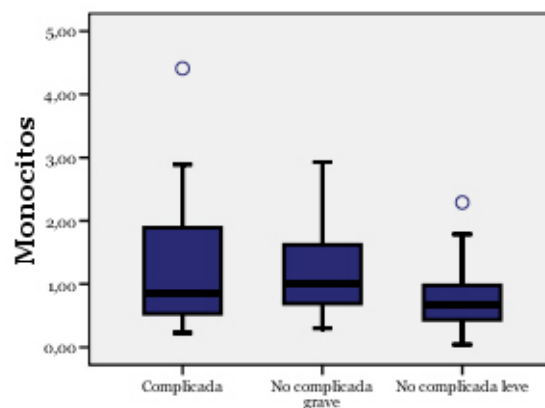
Por otro lado, también debemos señalar la existencia de leucocitosis en 4 de los pacientes con babesiosis complicada (15,38%), 2 con babesiosis no complicada grave (9,09%) y en 1 con babesiosis no complicada leve (1,79%).

5.2.2.4. RECUESTOS ABSOLUTOS DE LINFOCITOS, MONOCITOS, NEUTRÓFILOS, EOSINÓFILOS Y BASÓFILOS

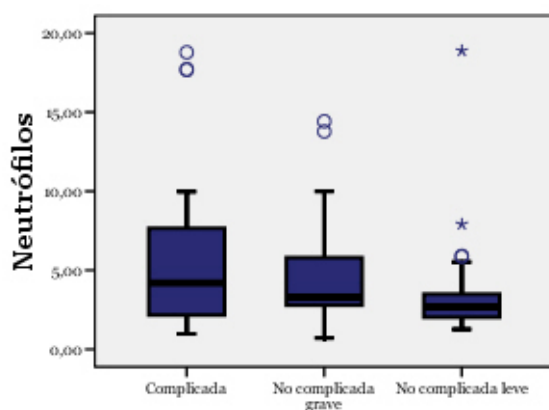
Presentamos sus diagramas de caja respectivos (gráficas 24-28):



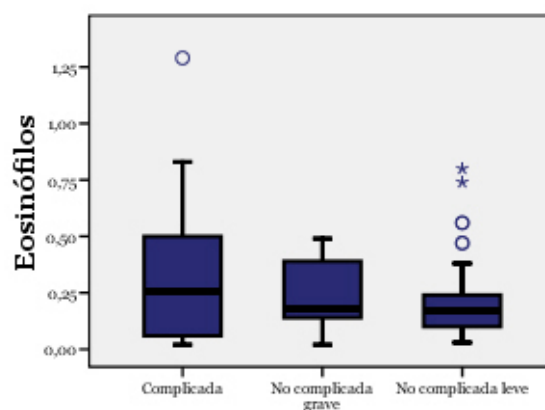
Gráfica 24: Distribución del recuento absoluto de linfocitos en función del grado de complicación



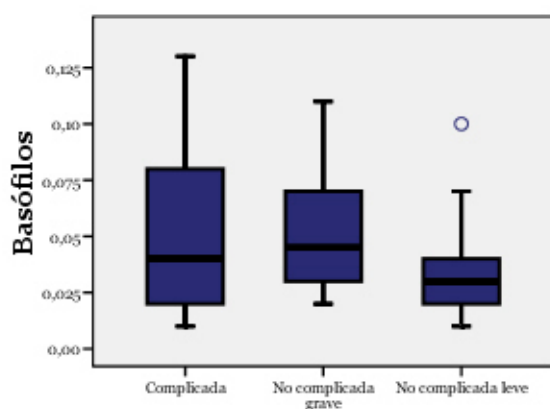
Gráfica 25: Distribución del recuento absoluto de monocitos en función del grado de complicación



Gráfica 26: Distribución del recuento absoluto de neutrófilos en función del grado de complicación



Gráfica 27: Distribución del recuento absoluto de eosinófilos en función del grado de complicación

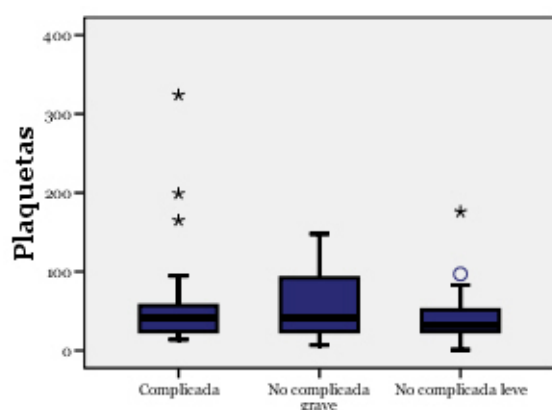


Gráfica 28: Distribución del recuento absoluto de basófilos en función del grado de complicación

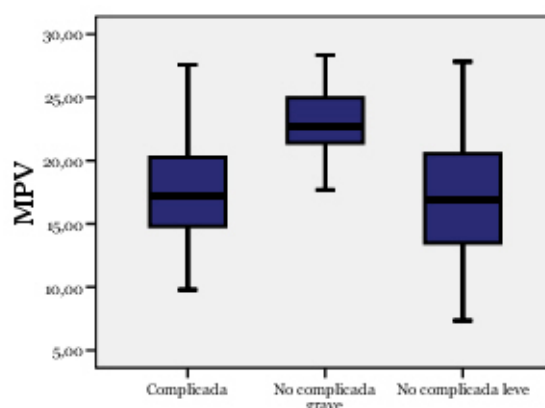
Para toda la serie blanca los valores medios más bajos siempre los ha mostrado el grupo de pacientes con babesiosis no complicada leve (tablas 23-25). Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para el recuento total de linfocitos entre los pacientes con babesiosis no complicada leve y no complicada grave. En el caso de los recuentos absolutos de monocitos y de basófilos existen diferencias significativas entre los animales con babesiosis no complicada leve y los otros dos grupos. Por último, en el caso de los recuentos de neutrófilos y eosinófilos las diferencias significativas aparecen entre los pacientes con babesiosis no complicada leve y los pacientes complicados.

5.2.2.5. RECUENTO ABSOLUTO DE PLAQUETAS, VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO Y ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO

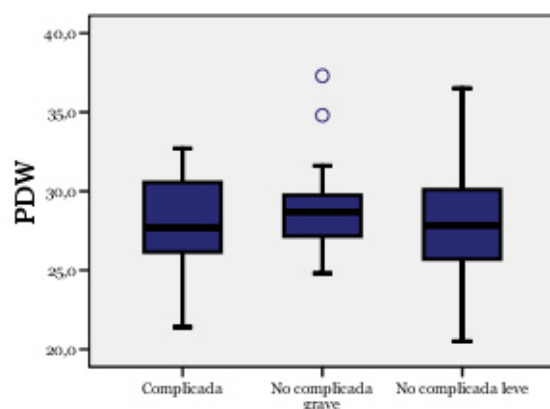
Representamos los diagramas de caja correspondientes al recuento absoluto de plaquetas, volumen plaquetario medio y ancho de distribución plaquetario (gráficas 29, 30 y 31):



Gráfica 29: Distribución del recuento absoluto de plaquetas en función del grado de complicación



Gráfica 30: Distribución del volumen plaquetario medio en función del grado de complicación



Gráfica 31: Distribución del ancho de distribución plaquetario medio en función del grado de complicación

La trombocitopenia fue un hallazgo constante en los tres grupos, sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p<0,05$) (tablas 23-25 y gráfica 28). Únicamente 3 de los pacientes con babesiosis complicada presentaban un recuento plaquetario normal. En función de la clasificación propuesta por Furlanello *et al.* (2005) los perros con babesiosis no complicada leve presentaron una trombocitopenia media moderada, mientras que en los otros dos grupos la trombocitopenia media fue leve. A este respecto, presentaban trombocitopenia grave 7 pacientes con babesiosis complicada (26,92%), 6 con babesiosis no complicada grave (27,27%) y 15 con babesiosis no complicada leve (26,79%). Siendo, por tanto, el porcentaje de casos con trombocitopenia grave muy similar en los tres grupos.

Por lo que respecta a los índices plaquetarios, tanto el MPV como el PDW, se encuentran en los tres grupos por encima de su valor normal. Sólo hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) en relación al volumen plaquetario medio entre los pacientes con babesiosis no complicada grave y los otros dos grupos.

5.2.3. VARIABLES BIOQUÍMICAS

A continuación exponemos, en las tablas 26, 27 y 28, los resultados medios obtenidos en el estudio bioquímico efectuado:

BABESIOSIS COMPLICADA					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
ALP (U/l)	232,58*#	167,00	143,963	53	600
ALT (U/l)	131,12*#	93,50	110,874	10	380
BILT (mg/dl)	1,47*#	1,40	1,214	0,1	3,7
BUN (mg/dl)	74,73*#	64,50	43,998	17,0	130,0
CREA (mg/dl)	2,05*#	1,40	1,764	0,3	6,8
GLU (mg/dl)	118,73	113,50	33,34	57	220
PT (g/dl)	7,19*#	6,80	1,804	3,6	11,2

Tabla 26: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis complicada. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada grave ($p<0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada leve ($p<0,05$)

En cuanto a los pacientes con babesiosis no complicada grave tenemos (tabla 27):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
ALP (U/l)	165,82*	162,00	78,695	48	435
ALT (U/l)	40,64*	41,00	23,635	10	77
BILT (mg/dl)	0,45*	0,25	0,442	0,1	1,2
BUN (mg/dl)	36,45*	26,00	30,244	9,9	120,0
CREA (mg/dl)	0,66*	0,50	0,333	0,3	1,6
GLU (mg/dl)	118,23	105,00	41,321	86	254
PT (g/dl)	6,04*	6,10	1,05	4,3	8,1

Tabla 27: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis complicada. ($p < 0,05$)

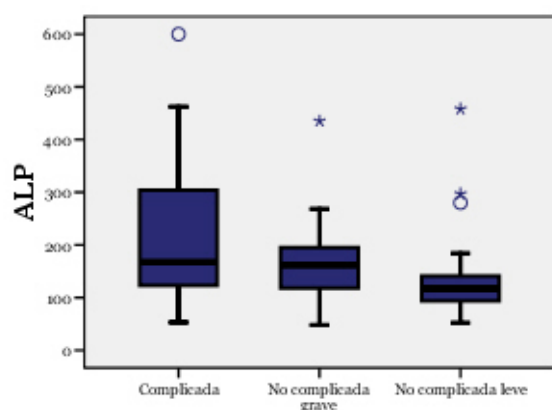
Y en el caso de los perros con babesiosis no complicada leve (tabla 28):

BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
ALP (U/l)	128,50*	117,00	63,289	52	458
ALT (U/l)	65,55*	51,50	49,588	10	245
BILT (mg/dl)	0,31*	0,10	0,335	0,1	1,4
BUN (mg/dl)	29,96*	20,00	24,949	11,0	120,0
CREA (mg/dl)	0,92*	0,90	0,272	0,5	1,6
GLU (mg/dl)	110,17	104,00	23,081	76	214
PT (g/dl)	6,53*	6,50	0,868	4,3	9,5

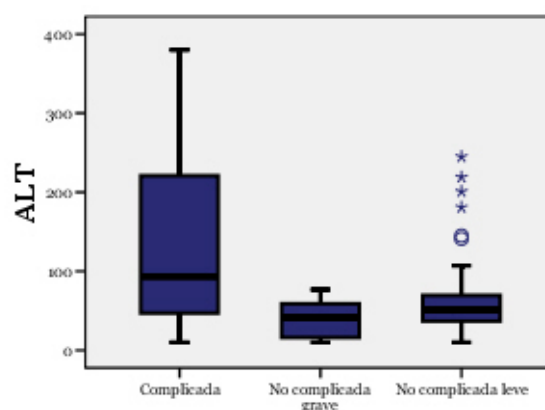
Tabla 28: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis no complicada leve (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis complicada ($p < 0,05$)

5.2.3.1. CONCENTRACIONES DE FOSFATASA ALCALINA, ALANINA AMINOTRANSFERASA Y BILIRRUBINA TOTAL

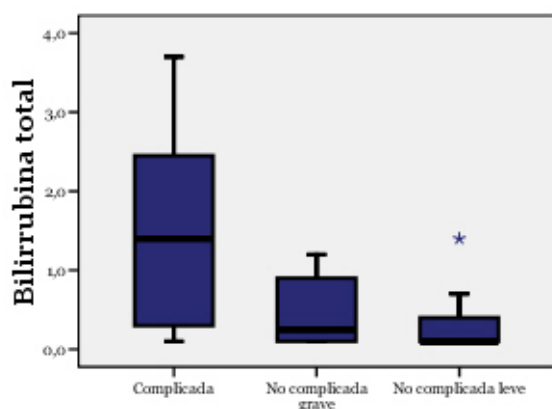
Realizamos los diagramas de caja correspondientes a las concentraciones de ALP, ALT y bilirrubina total (gráficas 32, 33 y 34):



Gráfica 32: Distribución de la concentración de ALP en función del grado de complicación



Gráfica 33: Distribución de la concentración de ALT en función del grado de complicación



Gráfica 34: Distribución de la concentración de bilirrubina total en función del grado de complicación

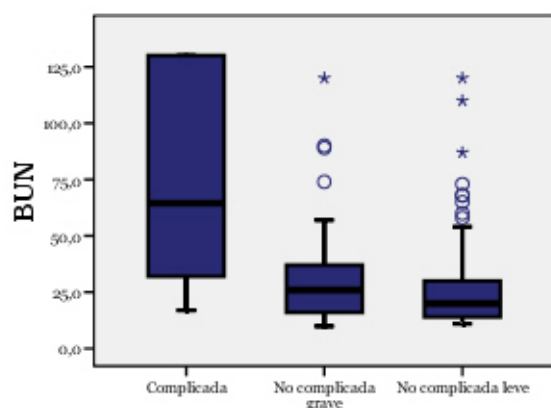
Los valores medios de las enzimas hepáticas aparecen ligeramente elevados en el grupo de los pacientes con babesiosis complicada mientras que en los otros dos grupos están dentro de los límites considerados como normales (tablas 26-28 y gráficas 32-34). Los valores de la fosfatasa alcalina aparecieron incrementados en 11 pacientes con babesiosis complicada (42,31%), en 3 con babesiosis no complicada grave (13,64%) y en 3 con babesiosis no complicada leve (5,36%). En el caso de la alanina aminotransferasa sus valores superaron las 100 U/l en 10 de los pacientes con babesiosis complicada (38,46%), en 7 con babesiosis no complicada grave (31,82%) y en 3 con babesiosis no complicada leve

(5,36%). Mientras que ambas enzimas presentaron valores por encima del doble de su valor normal en 8 de los pacientes con babesiosis complicada (30,77%). Por lo que respecta a la bilirrubina total, su valor estaba aumentado en 9 de los pacientes con babesiosis complicada (34,61%), 2 con babesiosis no complicada grave (9,09%) y en tan sólo 1 de los pacientes con babesiosis no complicada leve (1,79%).

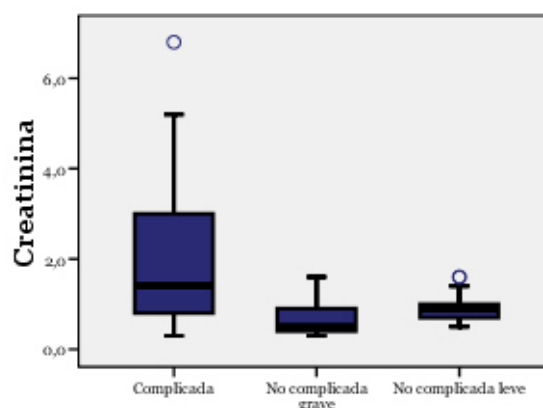
Hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los pacientes con babesiosis complicada y los pacientes con babesiosis no complicada grave y leve tanto para la fosfatasa alcalina como para la alanina aminotransferasa y la bilirrubina total, pero debemos tener en cuenta que los valores de las dos primeras han sido utilizados para la composición de los grupos.

5.2.3.2. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO SANGUÍNEO Y CREATININA

A continuación mostramos los diagramas de caja correspondientes a las concentraciones de BUN y creatinina (gráficas 35 y 36):



Gráfica 35: Distribución de la concentración del BUN en función del grado de complicación



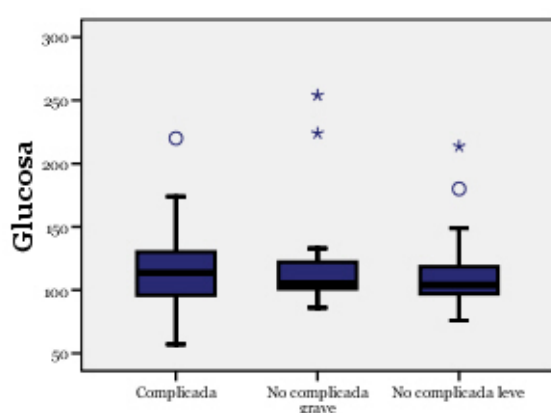
Gráfica 36: Distribución de la concentración de creatinina en función del grado de complicación

El valor medio del nitrógeno ureico sanguíneo se encuentra por encima de su valor normal en todos los grupos, aunque es en el grupo de los pacientes con babesiosis complicada donde alcanza unos valores más elevados (tablas 26-28 y gráfica 35). Así, este parámetro apareció incrementado en 21 pacientes con babesiosis complicada (80,77%), en 9 con babesiosis no complicada grave (40,91%) y en 16 con babesiosis no complicada leve (28,57%). En lo que se refiere al valor medio de la creatinina sérica, ésta aparece ligeramente aumentada en el grupo de los animales con babesiosis complicada, presentando valores elevados en 11 de los perros pertenecientes a este grupo (42,31%), pero su valor medio está próximo al considerado como normal (tabla 26 y gráfica 36).

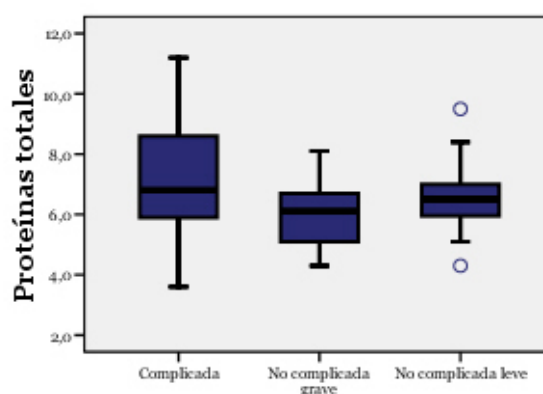
Hemos encontrado diferencias significativas para los dos parámetros ($p < 0,05$) entre los animales con babesiosis complicada y los otros dos grupos, lo cual era previsible ya que el valor de la creatinina también ha sido utilizado para la composición de los grupos.

5.2.3.3. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y PROTEÍNAS TOTALES

Realizamos los diagramas de caja correspondientes a las concentraciones de glucosa y proteínas totales (gráficas 37 y 38):



Gráfica 37: Distribución de la concentración de glucosa en función del grado de complicación



Gráfica 38: Distribución de la concentración de proteínas totales en función del grado de complicación

Como podemos comprobar en las tablas 26, 27 y 28 tanto el valor medio de las proteínas totales como el de la concentración de glucosa están dentro de los valores considerados como normales en el perro, si bien, el valor de las proteínas totales es significativamente superior en el grupo de los pacientes con babesiosis complicada respecto a los otros dos grupos (gráfica 38).

La hiperglucemia fue un hallazgo relativamente común en nuestro estudio, sobre todo en aquellos perros con babesiosis complicada, apareciendo en 8 de estos pacientes (30,77%), en 2 con babesiosis no complicada grave (9,09%) y en 3 con babesiosis no complicada leve (5,36%); mientras que la hipoglucemia tan sólo apareció en uno de los pacientes con babesiosis complicada (3,85%).

El comportamiento de las concentraciones de las proteínas totales ha sido variable en los distintos grupos estudiados. Así, en el grupo de pacientes con babesiosis complicada 8 de los perros presentaban hiperproteinemia (30,77%), mientras que este parámetro no apareció elevado en ninguno de los pacientes con babesiosis no complicada grave y únicamente en 3 de los pacientes con babesiosis no complicada leve (5,38%). Presentaron hipoproteinemia 4 perros con babesiosis complicada (15,38%), 6 con babesiosis no complicada grave (27,27%) y 2 con babesiosis no complicada leve (3,57%).

5.2.4. VARIABLES ECOGRÁFICAS

En las tablas 29, 30 y 31 mostramos el número de animales que presentaban lesiones esplénicas, hepáticas y/o renales en función del cuadro clínico de la enfermedad. Así, la distribución de las lesiones en los 18 pacientes con babesiosis complicada a los que se les realizó la ecografía abdominal fue la siguiente (tabla 29):

BABESIOSIS COMPLICADA			
LESIONES ESPLÉNICAS	Difusas	Esplenomegalia difusa	16
		Alteraciones de la ecotextura	17
		Alteraciones de la ecogenicidad	16
	Focales		0
LESIONES HEPÁTICAS	Difusas	Hepatomegalia	5
		Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	8
	Focales		0
LESIONES RENALES	Difusas	Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	14
	Focales		0

Tabla 29: Número de animales con babesiosis complicada que presentaban lesiones en la exploración ecográfica

En el caso de los pacientes con babesiosis no complicada grave y no complicada leve fueron 14 y 40 los perros evaluados respectivamente, y se encontraron las siguientes lesiones (tablas 30 y 31):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE			
LESIONES ESPLÉNICAS	Difusas	Esplenomegalia difusa	11
		Alteraciones de la ecotextura	11
		Alteraciones de la ecogenicidad	11
	Focales		0
LESIONES HEPÁTICAS	Difusas	Hepatomegalia	3
		Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	3
	Focales		0
LESIONES RENALES	Difusas	Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	7
	Focales		0

Tabla 30: Número de animales con babesiosis no complicada grave que presentaban lesiones en la exploración ecográfica

BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE			
LESIONES ESPLÉNICAS	Difusas	Esplenomegalia difusa	30
		Alteraciones de la ecotextura	35
		Alteraciones de la ecogenicidad	27
	Focales		0
LESIONES HEPÁTICAS	Difusas	Hepatomegalia	8
		Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	8
	Focales		0
LESIONES RENALES	Difusas	Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	13
	Focales		0

Tabla 31: Número de animales con babesiosis no complicada leve que presentaban lesiones en la exploración ecográfica

A continuación podemos observar la prevalencia de cada una de las lesiones tanto en el caso de los pacientes con babesiosis complicada como en los animales con babesiosis no complicada grave y leve (tabla 32):

	PREVALENCIAS		
	BABESIOSIS COMPLICADA	BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE	BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE
LESIONES ESPLÉNICAS	94,4%	78,6%	87,5%
LESIONES HEPÁTICAS	44,4%	28,6%	22,5%
LESIONES RENALES	77,8%	50,0%	32,5%

Tabla 32: Prevalencia de las distintas lesiones en los pacientes con babesiosis complicada, no complicada grave y no complicada leve

Como podemos comprobar en la tabla 32 son los animales con babesiosis complicada los que presentan un mayor porcentaje de lesiones diagnosticadas mediante ecografía tanto en el bazo como en el hígado y en los riñones. Cabe destacar, como ya hemos comentado, que en ninguno de los casos se encontraron lesiones focales y que las lesiones esplénicas fueron las más prevalentes en todos los grupos. La alteración de la ecogenicidad de los órganos fue la lesión más común, aunque en el caso del bazo también fueron frecuentes los cambios de la ecotextura así como el aumento del tamaño del órgano (esplenomegalia difusa). Otro de los hallazgos, aunque menos frecuente, fue la hepatomegalia.

En relación a la hemodinámica renal los resultados obtenidos en el grupo de los pacientes con babesiosis complicada fueron los siguientes (tabla 33):

BABESIOSIS COMPLICADA						
	n	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
IR del riñón izquierdo	18	0,709*	0,725	0,084	0,54	0,89
IP del riñón izquierdo	9	1,757*	1,815	0,584	1,02	2,38
IR del riñón derecho	18	0,713*	0,730	0,076	0,59	0,82
IP del riñón derecho	9	1,712*	1,746	0,453	1,03	2,19

Tabla 33: Valores medios de la hemodinámica renal de los pacientes con babesiosis complicada. (*) diferencias significativas respecto al grupo control

En el grupo de los animales con babesiosis no complicada grave (tabla 34):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE						
	n	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
IR del riñón izquierdo	14	0,731*	0,734	0,076	0,59	0,88
IP del riñón izquierdo	8	1,906*	1,940	0,417	1,27	2,36
IR del riñón derecho	14	0,733*	0,732	0,079	0,59	0,86
IP del riñón derecho	8	1,914*	1,740	0,390	1,44	2,42

Tabla 34: Valores medios de la hemodinámica renal de los pacientes con babesiosis no complicada grave. (*) diferencias significativas respecto al grupo control

Y, en el grupo con babesiosis no complicada leve (tabla 35):

BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE						
	n	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
IR del riñón izquierdo	40	0,663*	0,660	0,070	0,52	0,88
IP del riñón izquierdo	18	1,360*	1,260	0,543	0,88	2,98
IR del riñón derecho	40	0,665*	0,660	0,070	0,47	0,90
IP del riñón derecho	18	1,347*	1,255	0,487	1,00	2,78

Tabla 35: Valores medios de la hemodinámica renal de los pacientes con babesiosis no complicada leve. (*) diferencias significativas respecto al grupo control

Como podemos observar en las tablas 33, 34 y 35 son los pacientes con babesiosis no complicada grave los que presentan unos valores más elevados en la hemodinámica renal y sus medias rebasan los valores considerados como normales en perros sanos no sedados. Además, los valores tanto de los índices de resistencia como de los índices de pulsatilidad están incrementados en los tres grupos respecto a los valores del grupo control.

5.3. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES

A los 14 días del diagnóstico de babesiosis, se realizó la revisión completa de cada uno de los 57 pacientes que continuaron el tratamiento en nuestro hospital. Nueve de los cuales pertenecían al grupo de babesiosis complicada, 13 al de babesiosis no complicada grave y 35 al de babesiosis no complicada leve.

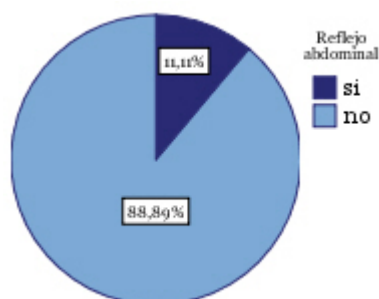
5.3.1. VARIABLES CON VALOR CLÍNICO

A continuación se exponen las medias de la temperatura corporal y de la presión arterial para cada uno de los grupos estudiados (tablas 36, 37 y 38):

BABESIOSIS COMPLICADA (REVISIÓN)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Temperatura (°C)	38,94	38,87	0,346	38,70	39,60
Presión arterial (mmHg)	139,44	140,00	18,276	110	170

Tabla 36: Valores medios de las variables con valor clínico en la revisión de los pacientes con babesiosis complicada

De los 9 perros con babesiosis complicada a los que se les realizó la revisión sólo uno de ellos presentaba reflejo doloroso a la palpación abdominal (gráfica 39):



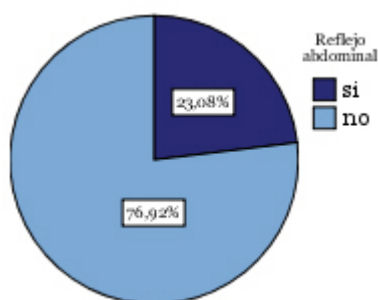
Gráfica 39: Porcentaje de perros con babesiosis complicada que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal en el momento de la revisión

En el caso de los pacientes con babesiosis no complicada grave (tabla 37):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE (REVISIÓN)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Temperatura (°C)	38,81	38,68	0,525	38,10	39,87
Presión arterial (mmHg)	128,08	130,00	19,098	100	165

Tabla 37: Valores medios de las variables con valor clínico en la revisión de los pacientes con babesiosis no complicada grave

Tres de los 13 perros con babesiosis no complicada grave mostraron dolor a la palpación abdominal (gráfica 40):



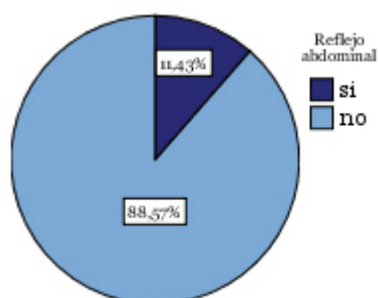
Gráfica 40: Porcentaje de perros con babesiosis no complicada grave que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal en el momento de la revisión

Y en los perros con babesiosis no complicada leve (tabla 38):

BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE (REVISIÓN)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Temperatura (°C)	38,73	38,79	0,334	37,90	39,38
Presión arterial (mmHg)	127,14	125,00	15,963	100	170

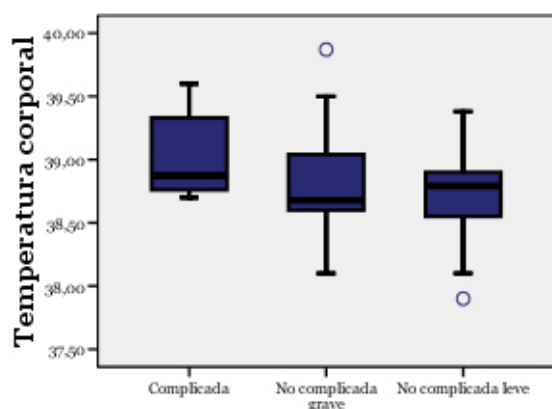
Tabla 38: Valores medios de las variables con valor clínico en la revisión de los pacientes con babesiosis no complicada leve

En este grupo 4 de los 35 perros examinados presentaban un reflejo doloroso a la palpación abdominal (gráfica 41):

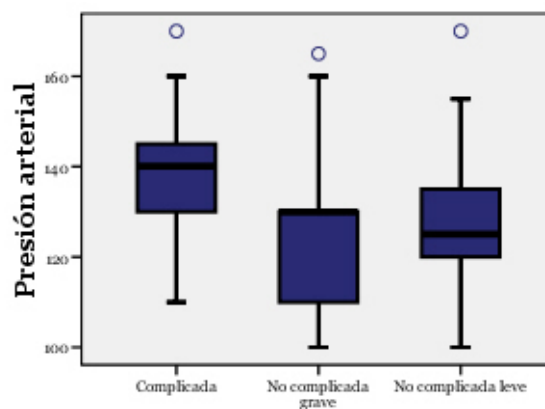


Gráfica 41: Porcentaje de perros con babesiosis no complicada leve que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal en el momento de la revisión

Representamos los diagramas de caja correspondientes a la temperatura corporal y a la presión arterial de los pacientes en el momento de la revisión (gráficas 42 y 43):



Gráfica 42: Distribución de la temperatura corporal en función del grado de complicación en el momento de la revisión



Gráfica 43: Distribución de la presión arterial en función del grado de complicación en el momento de la revisión

Como podemos observar las medias de las variables clínicas de todos los grupos se encuentran dentro de valores normales en el momento de la revisión (tablas 36, 37 y 38 y gráficas 42 y 43), aunque son los pacientes que padecieron babesiosis complicada los que presentan unos valores más elevados. No existen diferencias significativas entre los grupos ni para la temperatura corporal ni para la presión arterial. Únicamente hemos hallado incrementos ligeros de la temperatura corporal, con valores entre los 39,5°C y los 40°C, en uno de los pacientes con babesiosis complicada (11,11%) y en otro con babesiosis no complicada grave (7,69%). En lo referente a la presión arterial ningún perro presentó hipotensión ni hipertensión arterial.

También es importante señalar que el 14,03% de los perros seguían presentando un dolor agudo a la palpación abdominal, y que el mayor porcentaje correspondía al grupo de los pacientes con babesiosis no complicada grave.

5.3.2. VARIABLES HEMATOLÓGICAS

Las medias de las variables hematológicas obtenidas en el momento de la revisión de los pacientes fueron las siguientes (tablas 39, 40 y 41):

BABESIOSIS COMPLICADA (REVISIÓN)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Hct (%)	36,92 [#]	36,10	6,734	27,2	47,4
RBC (millones/ μ l)	5,40 [#]	5,30	0,913	4,17	6,82
Hb (g/dl)	15,67	15,40	3,766	10,8	20,2
MCV (fL)	68,28	69,30	2,069	65,2	71,0
MCH (pg)	28,89	28,53	4,343	23,78	37,83
MCHC (g/dl)	37,16	37,90	2,359	32,7	39,3
RDW (%)	17,50	17,60	1,225	15,3	19,4
Recuento reticulocitos (miles/ μ l)	67,24	60,30	34,082	24,7	141,6
% de reticulocitos	1,26 [*]	1,20	0,648	0,4	2,6
Valor absoluto reticulocitos corregido (miles/ μ l)	50,26	32,24	34,969	19,55	113,59
WBC (miles/ μ l)	8,41	7,44	3,516	3,75	14,00
Recuento linfocitos (miles/ μ l)	1,63	1,45	0,655	0,88	2,63
Recuento monocitos (miles/ μ l)	1,01	1,02	0,343	0,47	1,46
Recuento neutrófilos (miles/ μ l)	5,27	4,13	2,480	2,01	9,54
Recuento eosinófilos (miles/ μ l)	0,45	0,46	0,328	0,03	1,17
Recuento basófilos (miles/ μ l)	0,05	0,05	0,017	0,02	0,07
Recuento plaquetas (miles/ μ l)	341,11	326,00	116,249	234	581
MPV (fL)	13,04	10,03	5,691	7,84	20,66
PDW (%)	21,38	20,80	1,254	20,0	23,4

Tabla 39: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis complicada en el momento de la revisión. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada grave ($p < 0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada leve ($p < 0,05$)

En el caso de los pacientes con babesiosis no complicada grave (tabla 40):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE (REVISIÓN)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Hct (%)	35,45 [#]	33,2	7,102	26,4	52,4
RBC (millones/ μ l)	5,33 [#]	5,09	0,974	4,23	7,60
Hb (g/dl)	14,25 [#]	13,50	2,843	10,8	18,9
MCV (fL)	66,68	66,50	4,17	60,8	75,3
MCH (pg)	27,03	27,03	3,309	20,11	32,50
MCHC (g/dl)	36,72	36,20	1,682	34,7	39,0
RDW (%)	18,61 [#]	18,40	1,473	15,9	21,5
Recuento reticulocitos (miles/ μ l)	82,98 [#]	47,90	70,467	18,0	251,4
% de reticulocitos	1,68 ^{*#}	0,70	1,541	0,4	5,3
Valor absoluto reticulocitos corregido (miles/ μ l)	52,64	42,64	49,212	7,20	198,88
WBC (miles/ μ l)	9,67	9,35	1,682	7,62	13,29
Recuento linfocitos (miles/ μ l)	2,06	1,92	0,778	0,91	3,50
Recuento monocitos (miles/ μ l)	1,06	0,78	0,484	0,54	1,96
Recuento neutrófilos (miles/ μ l)	5,79	5,60	1,159	4,46	8,01
Recuento eosinófilos (miles/ μ l)	0,64	0,61	0,369	0,08	1,29
Recuento basófilos (miles/ μ l)	0,05	0,05	0,020	0,01	0,08
Recuento plaquetas (miles/ μ l)	358,77	341,00	96,290	224	524
MPV (fL)	13,21	13,00	4,013	6,98	21,62
PDW (%)	21,28	20,90	1,619	18,5	24,0

Tabla 40: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave en el momento de la revisión. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis complicada ($p < 0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada leve ($p < 0,05$)

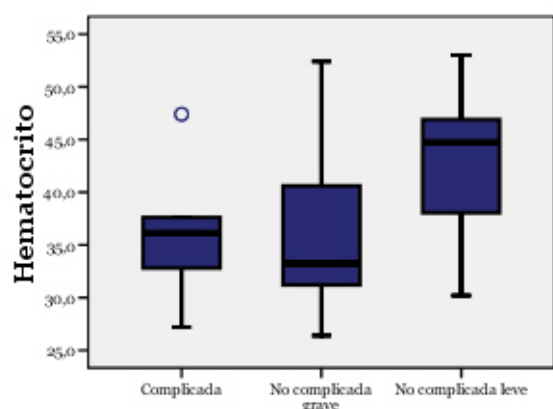
Y el grupo de babesiosis no complicada leve mostró los siguientes valores (tabla 41):

BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE (REVISIÓN)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Hct (%)	43,07*#	44,70	6,033	30,2	53,0
RBC (millones/ μ l)	6,38*#	6,52	0,874	4,51	8,18
Hb (g/dl)	16,96#	17,20	2,429	11,2	23,1
MCV (fL)	67,83	68,20	2,81	60,7	75,3
MCH (pg)	26,76	26,94	3,057	20,34	33,98
MCHC (g/dl)	36,26	35,50	1,589	34,5	39,3
RDW (%)	16,55#	16,40	0,949	15,2	19,6
Recuento reticulocitos (miles/ μ l)	63,34#	53,10	42,208	19,7	180,8
% de reticulocitos	1,06#	0,70	0,839	0,3	3,8
Valor absoluto reticulocitos corregido (miles/ μ l)	57,83	46,19	37,055	14,60	168,85
WBC (miles/ μ l)	8,97	8,73	3,168	3,65	15,38
Recuento linfocitos (miles/ μ l)	1,87	1,73	0,812	0,63	4,07
Recuento monocitos (miles/ μ l)	0,98	1,02	0,361	0,45	1,77
Recuento neutrófilos (miles/ μ l)	5,56	5,03	2,391	1,78	10,78
Recuento eosinófilos (miles/ μ l)	0,49	0,46	0,305	0,06	1,22
Recuento basófilos (miles/ μ l)	0,04	0,04	0,014	0,02	0,09
Recuento plaquetas (miles/ μ l)	315,69	295,00	101,701	180	536
MPV (fL)	11,20	10,29	3,797	5,91	19,67
PDW (%)	21,29	20,90	1,251	18,8	24,0

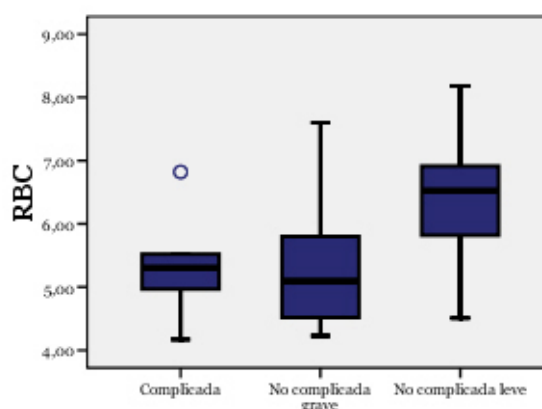
Tabla 41: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis no complicada leve en el momento de la revisión. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis complicada ($p < 0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada grave ($p < 0,05$)

5.3.2.1. HEMATOCRITO, RECUENTO TOTAL DE GLÓBULOS ROJOS Y HEMOGLOBINA

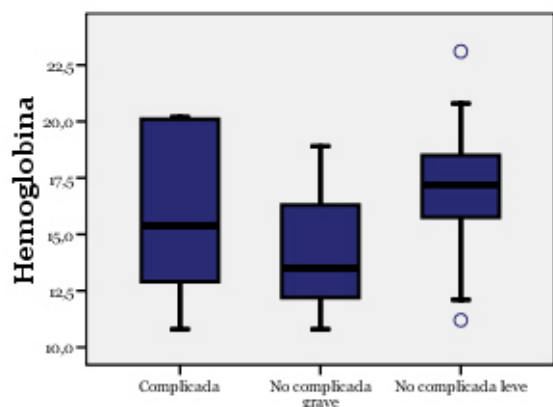
A continuación exponemos los diagramas de caja correspondientes al hematocrito, recuento total de glóbulos rojos y concentración de hemoglobina en el momento de la revisión (gráficas 44, 45 y 46):



Gráfica 44: Distribución del valor hematocrito en función del grado de complicación en el momento de la revisión



Gráfica 45: Distribución del recuento total de glóbulos rojos en función del grado de complicación en el momento de la revisión



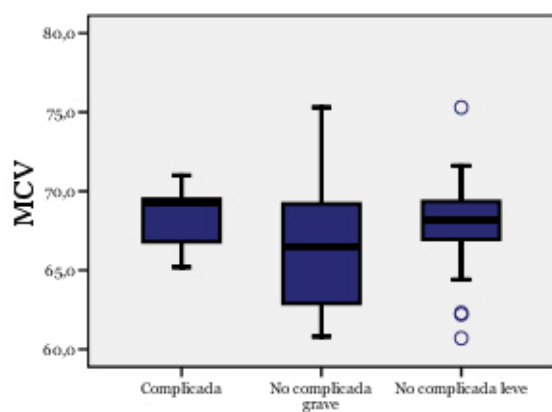
Gráfica 46: Distribución de la concentración de hemoglobina en función del grado de complicación en el momento de la revisión

Como podemos observar en las tablas 39, 40 y 41 y en las gráficas 44, 45 y 46 las medias de la serie roja prácticamente recuperaron los valores normales a los 14 días de iniciarse el tratamiento, aunque el recuento total de glóbulos rojos y el hematocrito, en el caso de los pacientes con babesiosis complicada y no complicada grave, estaban todavía ligeramente disminuidos. Así, hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos y los perros con babesiosis no complicada leve.

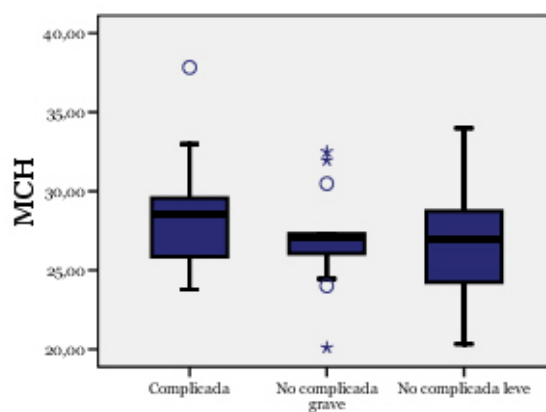
No obstante, en 5 de los pacientes del grupo con babesiosis complicada (55,55%), en 9 con babesiosis no complicada grave (69,23%) y en 6 con babesiosis no complicada leve (17,14%), el hematocrito y el recuento total de glóbulos rojos se mantenían ligeramente por debajo de la normalidad. No obstante, en ningún caso se trataba de anemias graves.

5.3.2.2. VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO, HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA, CONCENTRACIÓN CORPUSCULAR MEDIA DE HEMOGLOBINA, ANCHO DE DISTRIBUCIÓN ERITROCITARIA, PORCENTAJE DE RETICULOCITOS, RECuento ABSOLUTO DE RETICULOCITOS Y VALOR ABSOLUTO DE RETICULOCITOS CORREGIDO

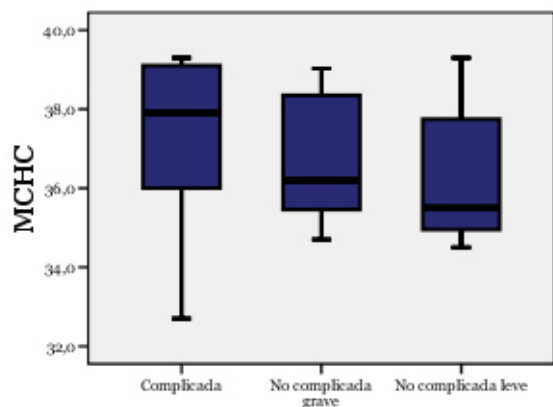
A continuación mostramos los diagramas de caja correspondientes (gráficas 47-53):



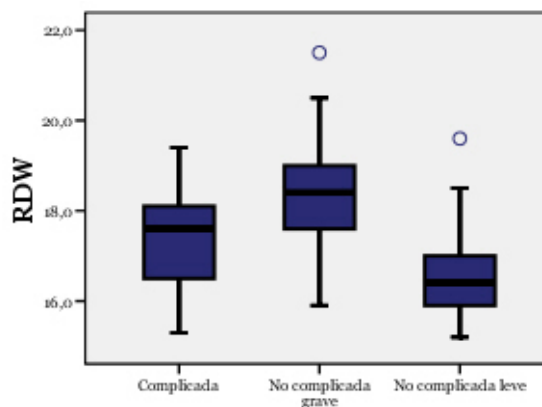
Gráfica 47: Distribución del volumen corpuscular medio en función del grado de complicación en el momento de la revisión



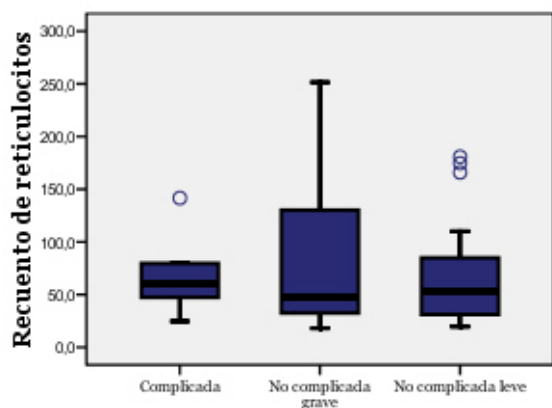
Gráfica 48: Distribución de la hemoglobina corpuscular media en función del grado de complicación en el momento de la revisión



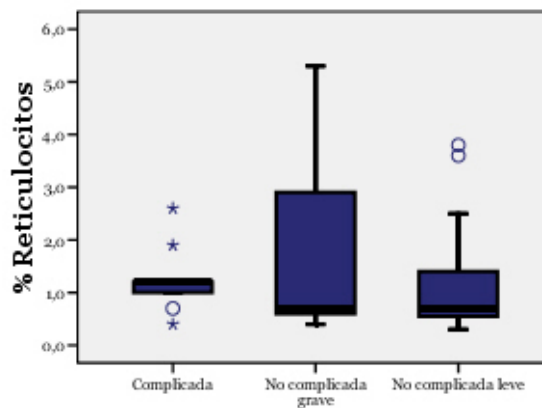
Gráfica 49: Distribución de la concentración corpuscular media de hemoglobina en función del grado de complicación en el momento de la revisión



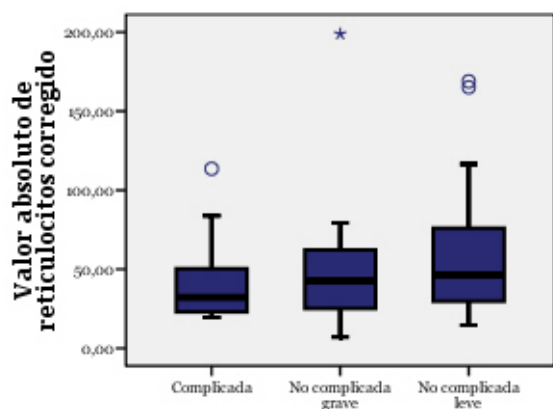
Gráfica 50: Distribución del ancho de distribución eritrocitaria en función del grado de complicación en el momento de la revisión



Gráfica 51: Distribución del porcentaje de reticulocitos en función del grado de complicación en el momento de la revisión



Gráfica 52: Distribución del recuento absoluto de reticulocitos en función del grado de complicación en el momento de la revisión

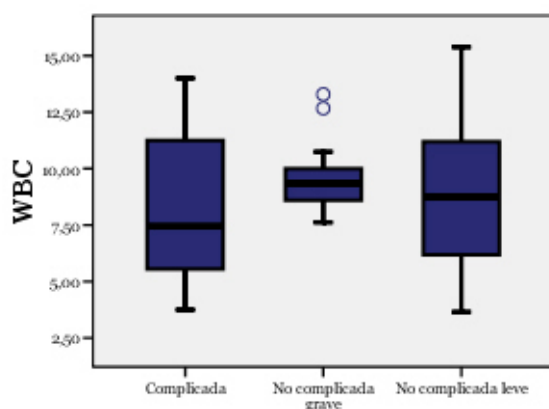


Gráfica 53: Distribución del valor absoluto de reticulocitos corregido en función del grado de complicación en el momento de la revisión

Por lo que respecta a los índices eritrocitarios hemos obtenido valores muy similares en todos los grupos y con valores medios dentro de los considerados como normales en el perro (tablas 39-41 y gráficas 47-53). Por tanto, podemos afirmar que la anemia sigue siendo normocítica y normocrómica. En lo referente al grado de regeneración de la anemia, los pacientes con babesiosis no complicada grave presentaron valores más elevados que los otros dos grupos, tanto del porcentaje de reticulocitos como del recuento absoluto de reticulocitos y del ancho de distribución eritrocitaria. Sin embargo, en función del valor absoluto de reticulocitos corregido, sigue sin haber regeneración en ninguno de los grupos, mostrando los tres valores muy similares. Así, tan sólo presenta valores superiores a los 105.000 reticulocitos/ml uno de los pacientes con babesiosis complicada (11,11%), otro con babesiosis no complicada grave (7,69%) y 3 con babesiosis no complicada leve (8,57%).

5.3.2.3. RECuento TOTAL DE GLÓBULOS BLANCOS

En la gráfica 54 mostramos el diagrama de caja correspondiente al recuento total de glóbulos blancos:

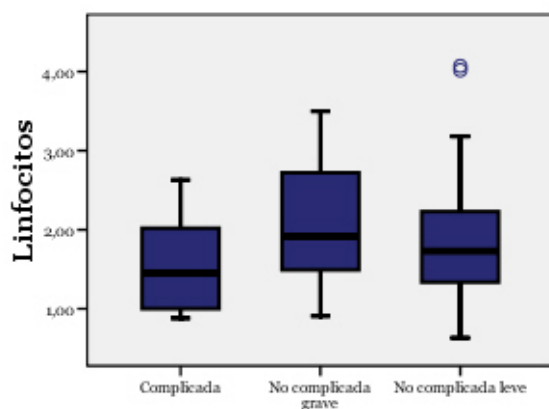


Gráfica 54: Distribución del recuento total de glóbulos blancos en función del grado de complicación en el momento de la revisión

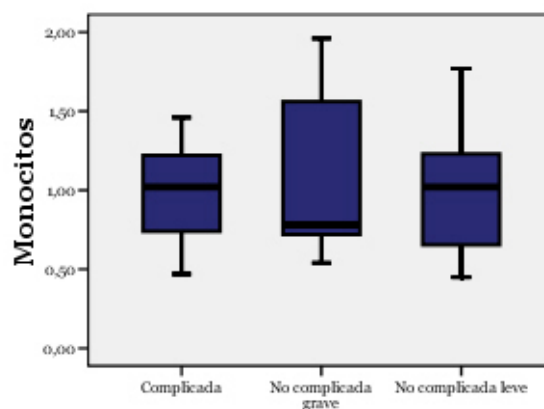
El recuento total de glóbulos blancos aumentó en los tres grupos respecto al momento del diagnóstico de la babesiosis, presentando en todos los casos valores medios dentro del rango considerado como normal en el perro (tablas 39-41 y gráfica 54). Sin embargo, dos pacientes del grupo con babesiosis complicada (22,22%) y 5 con babesiosis no complicada leve (14,29%) continúan con leucopenia. Ninguno de los perros mostró leucocitosis en el momento de la revisión.

5.3.2.4. RECuentos ABSOLUTOS DE LINFOCITOS, MONOCITOS, NEUTRÓFILOS, EOSINÓFILOS Y BASÓFILOS

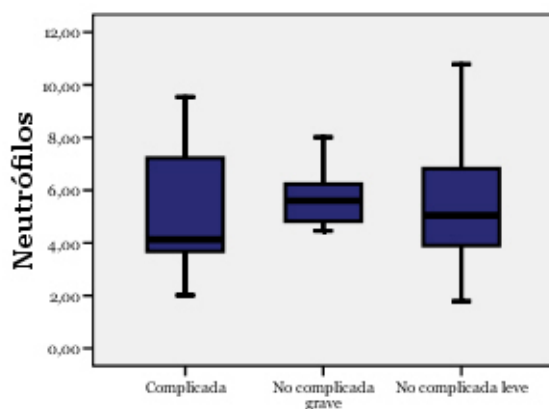
Realizamos sus diagramas de caja respectivos (gráficas 55-59):



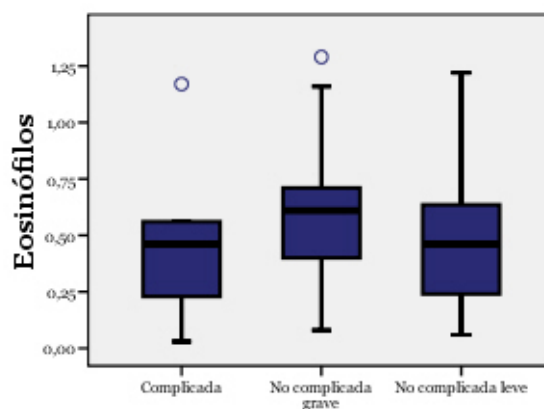
Gráfica 55: Distribución del recuento absoluto de linfocitos en función del grado de complicación en el momento de la revisión



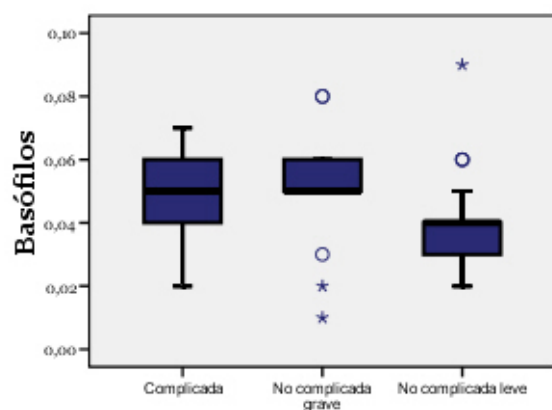
Gráfica 56: Distribución del recuento absoluto de monocitos en función del grado de complicación en el momento de la revisión



Gráfica 57: Distribución del recuento absoluto de neutrófilos en función del grado de complicación en el momento de la revisión



Gráfica 58: Distribución del recuento absoluto de eosinófilos en función del grado de complicación en el momento de la revisión

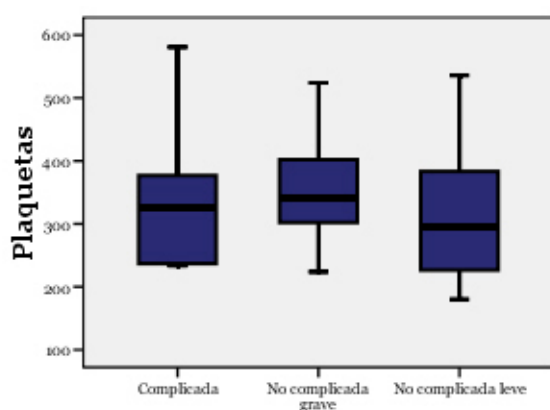


Gráfica 59: Distribución del recuento absoluto de basófilos en función del grado de complicación en el momento de la revisión

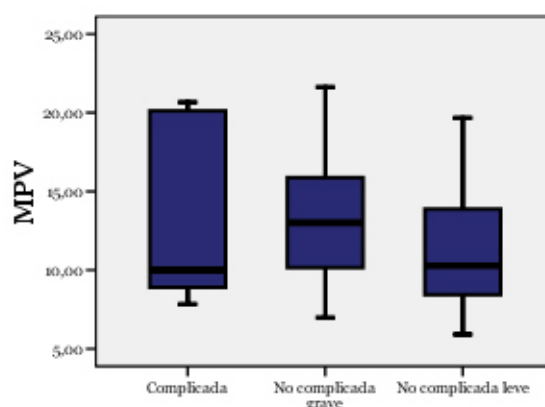
Los valores medios de toda la serie blanca están dentro de los valores considerados como normales en los tres grupos estudiados en el momento de la reevaluación de los animales (tablas 39-41 y gráficas 55-59). Las únicas alteraciones encontradas han sido la eosinopenia en un perro con babesiosis complicada (11,11%), en otro con babesiosis no complicada grave (7,69%) y en 4 con babesiosis no complicada leve (11,43%); y una neutropenia muy leve en 2 de los pacientes con babesiosis no complicada leve (5,71%).

5.3.2.5. RECUENTO ABSOLUTO DE PLAQUETAS, VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO Y ANCHO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO

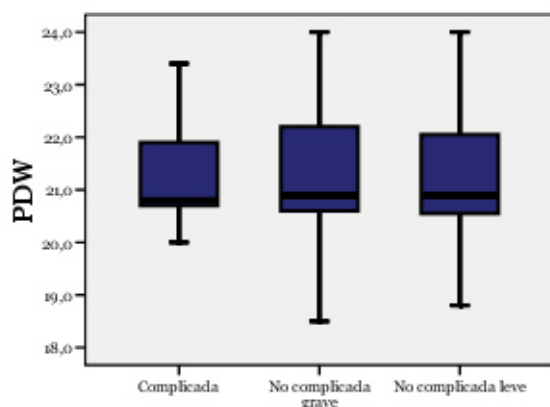
A continuación exponemos los diagramas de caja correspondientes al recuento absoluto de plaquetas, volumen plaquetario medio y ancho de distribución plaquetario (gráficas 60-62):



Gráfica 60: Distribución del recuento absoluto de plaquetas en función del grado de complicación en el momento de la revisión



Gráfica 61: Distribución del volumen plaquetario medio en función del grado de complicación en el momento de la revisión



Gráfica 62: Distribución del ancho de distribución plaquetario medio en función del grado de complicación en el momento de la revisión

Los valores medios del recuento plaquetario han mostrado un incremento muy marcado en el momento de la revisión de los pacientes, pasando a situarse en valores completamente normales en los tres grupos (tablas 39-41 y gráfica 60). Es importante destacar que ningún paciente presentó trombocitopenia a los 14 días del tratamiento.

Respecto a los índices plaquetarios, MPV y PDW, ambos mostraron valores similares en los tres grupos, sin embargo, mientras el MPV recuperó sus valores normales, el PDW permanece elevado en todos los grupos (tablas 39-41 y gráficas 61 y 62).

5.3.3. VARIABLES BIOQUÍMICAS

En las tablas 42, 43 y 44 exponemos los valores medios, con sus respectivos errores estándar, obtenidos en el estudio bioquímico efectuado en el momento de la revisión de los pacientes:

BABESIOSIS COMPLICADA (REVISIÓN)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
ALP (U/l)	169,50	173,00	82,158	58	288
ALT (U/l)	144,63*#	75,50	131,254	10	305
BILT (mg/dl)	0,125	0,100	0,050	0,1	0,2
BUN (mg/dl)	24,76	24,00	12,764	12,0	49,1
CREA (mg/dl)	1,04	1,00	0,226	0,7	1,5
GLU (mg/dl)	120,88	123,50	7,882	108	130
PT (g/dl)	6,74	6,85	0,534	5,7	7,3

Tabla 42: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis complicada en el momento de la revisión. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada grave ($p<0,05$). (#) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis no complicada leve ($p<0,05$)

Los valores medios en los pacientes con babesiosis no complicada grave fueron (tabla 43):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE (REVISIÓN)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
ALP (U/l)	132,44	78,00	103,538	65	320
ALT (U/l)	46,22*	47,00	17,782	25	71
BILT (mg/dl)	0,10	0,10	0,00	0,1	0,1
BUN (mg/dl)	22,78	22,00	11,22	6,0	39,0
CREA (mg/dl)	0,80	0,80	0,166	0,5	1,0
GLU (mg/dl)	120,89	122,00	7,132	109	132
PT (g/dl)	6,59	6,60	0,401	6,1	7,1

Tabla 43: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave en el momento de la revisión. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis complicada. ($p<0,05$)

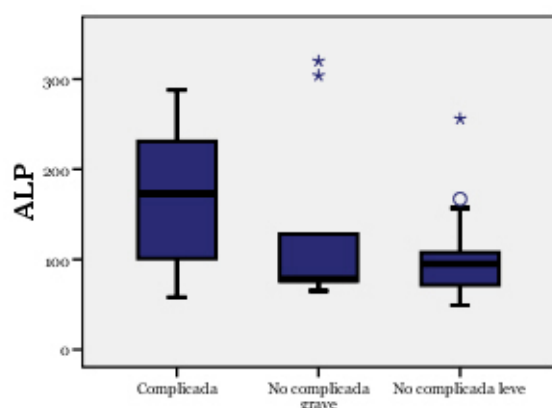
Y en el caso de los perros con babesiosis no complicada leve (tabla 44):

BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE (REVISIÓN)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
ALP (U/l)	102,85	95,00	42,788	49	256
ALT (U/l)	51,00*	49,00	21,157	14	95
BILT (mg/dl)	0,10	0,10	0,00	0,1	0,1
BUN (mg/dl)	25,24	22,00	10,384	11,0	47,0
CREA (mg/dl)	0,94	0,90	0,167	0,7	1,2
GLU (mg/dl)	117,19	119,00	8,311	97	135
PT (g/dl)	6,66	6,70	0,333	6,1	7,4

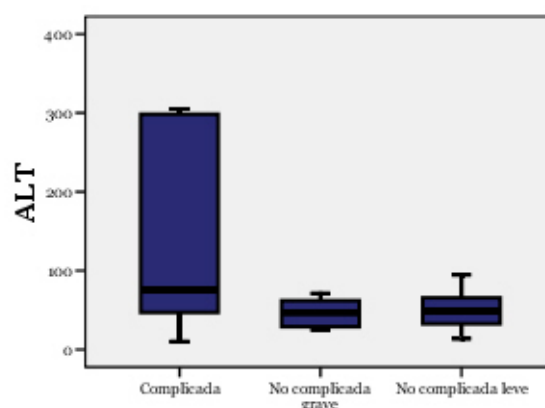
Tabla 44: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis no complicada leve en el momento de la revisión. (*) diferencias significativas respecto al grupo con babesiosis complicada. ($p<0,05$)

5.3.3.1. CONCENTRACIONES DE FOSFATASA ALCALINA, ALANINA AMINOTRANSFERASA Y BILIRRUBINA TOTAL

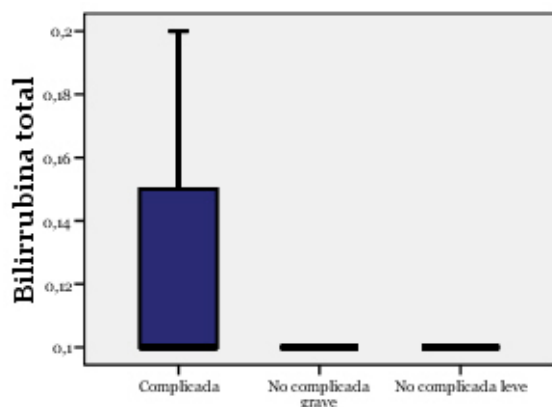
A continuación exponemos los diagramas de caja correspondientes a las concentraciones de ALP, ALT y bilirrubina total (gráficas 63, 64 y 65):



Gráfica 63: Distribución de la concentración de ALP en función del grado de complicación en el momento de la revisión



Gráfica 64: Distribución de la concentración de ALT en función del grado de complicación en el momento de la revisión



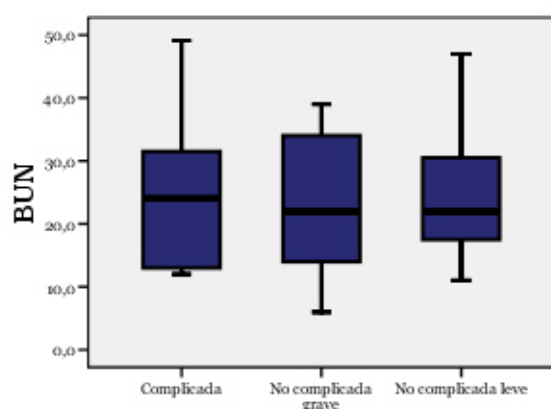
Gráfica 65: Distribución de la concentración de bilirrubina total en función del grado de complicación en el momento de la revisión

Como podemos observar en las tablas 42-44 y en las gráficas 63-65, los valores medios de la fosfatasa alcalina y de la bilirrubina total recuperaron sus valores normales en los tres grupos estudiados, mientras que en el caso de la alanina aminotransferasa sus valores siguen estando significativamente aumentados en el grupo con babesiosis complicada. En lo referente a la fosfatasa alcalina, dos de los pacientes con babesiosis complicada presentaron valores por encima de las 212 U/l establecidas como límite superior (22,22%), mientras que en los grupos con babesiosis no complicada grave y leve está aumentada en dos (15,38%) y uno (2,86%) de los casos respectivamente. En el caso de

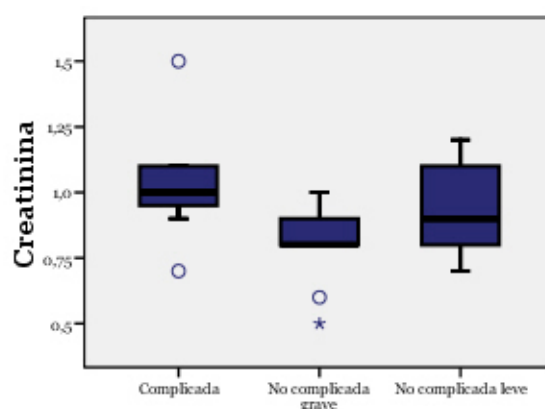
la ALT, tres de los pacientes con babesiosis complicada mostraban valores superiores a las 100 U/l (33,33%), mientras que ninguno de los perros con babesiosis no complicada grave o leve presentaban valores elevados para esta enzima. Por último, en el caso de la bilirrubina total, todos los pacientes mostraron valores normales en el momento de la revisión.

5.3.3.2. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO SANGUÍNEO Y CREATININA

Los diagramas de caja correspondientes a las concentraciones de BUN y creatinina en el momento de la revisión son los siguientes (gráficas 66 y 67):



Gráfica 66: Distribución de la concentración del BUN en función del grado de complicación en el momento de la revisión

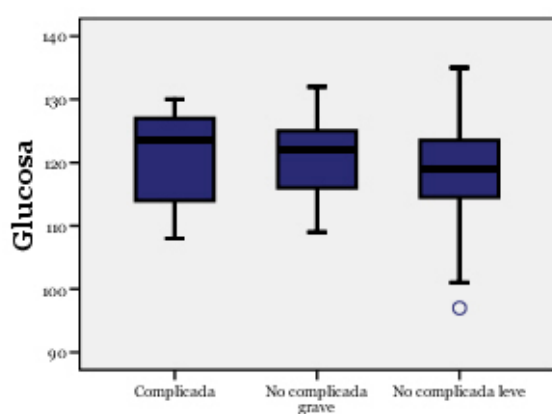


Gráfica 67: Distribución de la concentración de creatinina en función del grado de complicación en el momento de la revisión

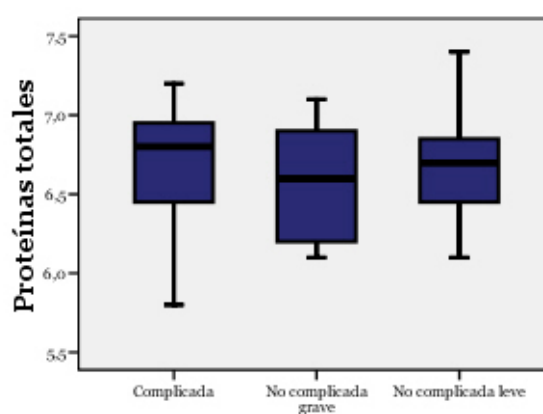
El nitrógeno ureico sanguíneo y la creatinina sérica presentaron valores medios normales en el momento de la revisión (tablas 42-44 y gráficas 66 y 67). El BUN apareció incrementado en 3 de los pacientes con babesiosis complicada (33,33%), en 3 con babesiosis no complicada grave (23,08%) y en 9 con babesiosis no complicada leve (25,71%), pero esta elevación fue muy inferior a la encontrada en el momento del diagnóstico de la enfermedad. Por lo que respecta a la creatinina sérica todos los pacientes presentaron valores normales en el momento de la revisión.

5.3.3.3. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y PROTEÍNAS TOTALES

Realizamos los diagramas de caja correspondientes a las concentraciones de glucosa y proteínas totales (gráficas 68 y 69):



Gráfica 68: Distribución de la concentración de glucosa en función del grado de complicación en el momento de la revisión



Gráfica 69: Distribución de la concentración de proteínas totales en función del grado de complicación en el momento de la revisión

Por lo que respecta a las concentraciones séricas de glucosa y de proteínas totales todos los pacientes tenían niveles normales en el momento de la revisión, con un valor medio muy similar para ambos parámetros en los tres grupos (tablas 42-44 y gráficas 68 y 69).

5.3.4. VARIABLES ECOGRÁFICAS

En el momento de la revisión se les realizó la ecografía abdominal a 34 perros, 6 con babesiosis complicada, 8 con babesiosis no complicada grave y 20 con babesiosis no complicada leve. En las siguientes tablas mostramos la distribución de las lesiones apreciadas en la exploración ecográfica de cada uno de los grupos (tablas 45, 46 y 47):

BABESIOSIS COMPLICADA (REVISIÓN)			
LESIONES ESPLÉNICAS	Difusas	Esplenomegalia difusa	1
		Alteraciones de la ecotextura	2
		Alteraciones de la ecogenicidad	1
	Focales		0
LESIONES HEPÁTICAS	Difusas	Hepatomegalia	0
		Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	2
	Focales		0
LESIONES RENALES	Difusas	Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	1
	Focales		0

Tabla 45: Número de animales con babesiosis complicada que presentaban lesiones en la exploración ecográfica en el momento de la revisión

Y en el caso de los pacientes con babesiosis no complicada grave y no complicada leve (tablas 46 y 47):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE (REVISIÓN)			
LESIONES ESPLÉNICAS	Difusas	Esplenomegalia difusa	5
		Alteraciones de la ecotextura	5
		Alteraciones de la ecogenicidad	5
	Focales		0
LESIONES HEPÁTICAS	Difusas	Hepatomegalia	0
		Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	1
	Focales		0
LESIONES RENALES	Difusas	Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	1
	Focales		0

Tabla 46: Número de animales con babesiosis no complicada grave que presentaban lesiones en la exploración ecográfica en el momento de la revisión

BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE (REVISIÓN)			
LESIONES ESPLÉNICAS	Difusas	Esplenomegalia difusa	4
		Alteraciones de la ecotextura	5
		Alteraciones de la ecogenicidad	4
	Focales		0
LESIONES HEPÁTICAS	Difusas	Hepatomegalia	0
		Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	3
	Focales		0
LESIONES RENALES	Difusas	Alteraciones de la ecotextura	0
		Alteraciones de la ecogenicidad	1
	Focales		0

Tabla 47: Número de animales con babesiosis no complicada leve que presentaban lesiones en la exploración ecográfica en el momento de la revisión

A continuación exponemos la prevalencia de las lesiones en cada uno de los grupos (tabla 48):

	PREVALENCIAS (REVISIÓN)		
	BABESIOSIS COMPLICADA	BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE	BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE
LESIONES ESPLÉNICAS	33,3%	62,5%	25%
LESIONES HEPÁTICAS	33,3%	12,5%	15%
LESIONES RENALES	16,7%	12,5%	5%

Tabla 48: Prevalencia de las distintas lesiones en los pacientes con babesiosis complicada, no complicada grave y no complicada leve en el momento de la revisión

Como podemos observar en las tablas 45-48 las lesiones diagnosticadas por ecografía se redujeron en gran medida en el momento de la revisión de los pacientes. Las lesiones esplénicas continúan siendo las más prevalentes, no obstante, son los pacientes con babesiosis no complicada grave los que las presentaron en un mayor número de ocasiones. Las lesiones hepáticas y renales seguían apareciendo en un mayor porcentaje en los pacientes con babesiosis complicada.

En lo referente a la hemodinámica renal los valores medios en el momento de la revisión fueron los siguientes (tablas 49, 50 y 51):

BABESIOSIS COMPLICADA (REVISIÓN)						
	n	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
IR del riñón izquierdo	6	0,653	0,665	0,033	0,60	0,68
IP del riñón izquierdo	4	1,137	1,165	0,074	1,03	1,19
IR del riñón derecho	6	0,633	0,640	0,046	0,58	0,69
IP del riñón derecho	4	1,125	1,114	0,118	0,98	1,18

Tabla 49: Valores medios de la hemodinámica renal en los pacientes con babesiosis complicada en el momento de la revisión

En el caso de los pacientes con babesiosis no complicada grave (tabla 50):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE (REVISIÓN)						
	n	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
IR del riñón izquierdo	8	0,685*	0,690	0,046	0,64	0,71
IP del riñón izquierdo	5	1,176	1,230	0,235	0,95	1,30
IR del riñón derecho	8	0,672*	0,675	0,035	0,62	0,70
IP del riñón derecho	5	1,168	1,200	0,212	1,05	1,29

Tabla 50: Valores medios de la hemodinámica renal en los pacientes con babesiosis no complicada grave en el momento de la revisión. (*) diferencias significativas respecto al grupo control

Y en el caso de los animales con babesiosis no complicada leve (tabla 51):

BABESIOSIS NO COMPLICADA LEVE (REVISIÓN)						
	n	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
IR del riñón izquierdo	20	0,646	0,660	0,053	0,52	0,70
IP del riñón izquierdo	8	1,080	1,015	0,142	0,96	1,29
IR del riñón derecho	20	0,632	0,635	0,054	0,50	0,69
IP del riñón derecho	8	1,065	1,040	0,126	0,92	1,26

Tabla 51: Valores medios de la hemodinámica renal en los pacientes con babesiosis no complicada leve en el momento de la revisión

Los pacientes con babesiosis no complicada grave presentaron los valores más elevados tanto de los índices de resistencia como de los índices de pulsatilidad renales, no obstante, ningún paciente mostró valores lo suficientemente elevados como para ser considerados patológicos (tablas 49-51). Sólo encontramos diferencias estadísticamente significativas para los índices de resistencia entre los pacientes con babesiosis no complicada grave y el grupo control.

5.4. RESULTADOS OBTENIDOS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA

En este estudio clínico en el que se han evaluado 104 perros enfermos de babesiosis hemos tenido una tasa de supervivencia del 87,5%, lo que supone un total de 13 muertes. De ellos, 11 pertenecían al grupo de babesiosis complicada y 2 al de babesiosis no complicada grave, mientras que en el grupo de pacientes con babesiosis no complicada leve todos los perros evolucionaron favorablemente. En lo que se refiere a los animales que no sobrevivieron que padecían babesiosis complicada, 4 de ellos presentaban fallo renal, 1 fallo hepático, 3 fallo renal y fallo hepático, 1 edema pulmonar y fallo hepático y 2 de ellos signos neurológicos, con alteraciones del estado de consciencia que evolucionó a estupor y coma previamente a su muerte.

A continuación exponemos las medias y desviaciones típicas de las variables estudiadas en los animales que no sobrevivieron en cada uno de los grupos.

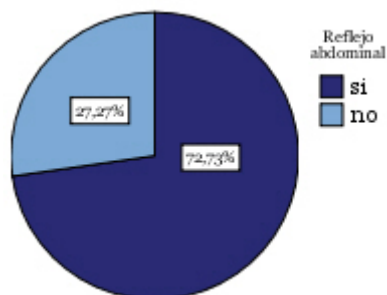
5.4.1. VARIABLES CON VALOR CLÍNICO

En la tabla 52 mostramos las medias de las variables clínicas de los animales que no sobrevivieron y pertenecían al grupo de babesiosis complicada:

BABESIOSIS COMPLICADA (ANIMALES QUE NO SOBREVIVIERON)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Edad (años)	6,77	7,00	4,119	0,5	14,0
Peso (kg)	18,54	17,00	10,919	7,0	44,0
Temperatura (°C)	38,20	38,18	1,505	36,40	41,43
Presión arterial (mmHg)	115,45	90,00	54,656	65	220

Tabla 52: Valores medios de las variables con valor clínico de los pacientes con babesiosis complicada que no sobrevivieron

De los 11 perros, 8 de ellos mostraron claros signos de dolor a la palpación abdominal (gráfica 70):



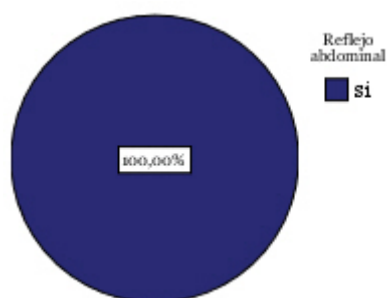
Gráfica 70: Porcentaje de perros con babesiosis complicada y que no sobrevivieron que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal

Los 2 animales que pertenecían al grupo de babesiosis no complicada grave presentaron los siguientes valores medios (tabla 53):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE (ANIMALES QUE NO SOBREVIVIERON)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Edad (años)	0,65	0,65	0,495	0,3	1,0
Peso (kg)	7,25	7,25	3,889	4,5	10,0
Temperatura (°C)	39,75	39,75	0,212	39,60	39,90
Presión arterial (mmHg)	95,00	95,00	7,071	90	100

Tabla 53: Valores medios de las variables con valor clínico de los pacientes con babesiosis no complicada grave que no sobrevivieron

Los dos animales mostraron un claro reflejo doloroso a la palpación abdominal (gráfica 71):



Gráfica 71: Porcentaje de perros con babesiosis no complicada grave y que no sobrevivieron que presentaban reflejo doloroso a la palpación abdominal

Como podemos observar en las tablas 52 y 53 los animales con babesiosis complicada que no sobrevivieron tenían una media de edad muy superior a los pacientes con babesiosis no complicada grave que no sobrevivieron. Así, 8 de los 11 perros con babesiosis complicada tenían una edad superior a los cinco años, mientras que los 2 perros que murieron pertenecientes al grupo de babesiosis no complicada grave eran menores al año de edad.

Por lo que respecta al peso, éste fue muy variable en el caso de los pacientes con babesiosis complicada, mientras que la media de los perros con babesiosis no complicada grave no llega a los 10 kg, aunque debemos tener en cuenta que se trataba de cachorros.

En relación a la temperatura corporal, en el grupo de pacientes con babesiosis no complicada grave dos perros presentaban una temperatura superior a los 39,5 °C. En el grupo de pacientes con babesiosis complicada 4 de los perros tenían una temperatura corporal inferior a los 37,5 °C y 2 superior a los 39,5 °C.

En lo referente a la presión arterial sistólica destacaron los valores compatibles con hipotensión, presentes tanto en los dos perros con babesiosis no complicada grave, como en 7 de los 11 pacientes con babesiosis complicada. Sin embargo, en este último grupo también hay que destacar la presencia de dos perros diagnosticados de fallo renal que tenían una presión arterial superior a los 200 mmHg.

El dolor abdominal fue un hallazgo muy frecuente en ambos grupos ya que únicamente 3 de los pacientes con babesiosis no complicada grave no lo presentaban.

5.4.2. VARIABLES HEMATOLÓGICAS

Los valores medios de las variables hematológicas de los animales que no sobrevivieron fueron las siguientes (tablas 54 y 55):

BABESIOSIS COMPLICADA (ANIMALES QUE NO SOBREVIVIERON)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Hct (%)	22,02	21,80	7,816	8,9	31,6
RBC (millones/ μ l)	3,34	3,43	1,111	1,36	4,64
Hb (g/dl)	8,62	9,20	2,812	3,9	12,5
MCV (fL)	65,31	65,40	2,795	60,2	70,2
MCH (pg)	25,94	25,88	1,956	23,60	28,96
MCHC (g/dl)	35,93	35,80	1,295	34,1	37,8
RDW (%)	16,94	15,60	2,188	15,0	21,4
Recuento reticulocitos (miles/ μ l)	29,38	24,90	14,162	11,2	61,9
% de reticulocitos	1,16	0,70	1,22	0,3	4,6
Valor absoluto reticulocitos corregido (miles/ μ l)	7,26	5,95	3,682	2,85	15,21
WBC (miles/ μ l)	11,20	10,74	7,201	2,66	22,20
Recuento linfocitos (miles/ μ l)	1,53	1,04	1,17	0,38	3,96
Recuento monocitos (miles/ μ l)	1,69	1,89	1,198	0,40	4,41
Recuento neutrófilos (miles/ μ l)	7,44	4,98	6,016	1,23	18,78
Recuento eosinófilos (miles/ μ l)	0,37	0,31	0,387	0,02	1,29
Recuento basófilos (miles/ μ l)	0,06	0,06	0,034	0,02	0,10
Recuento plaquetas (miles/ μ l)	75,55	37,00	93,494	15	324
MPV (fL)	19,10	15,36	7,562	9,79	27,57
PDW (%)	28,07	30,40	4,034	21,4	32,7

Tabla 54: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis complicada que no sobrevivieron

En el caso del grupo de los animales con babesiosis no complicada grave obtuvimos los siguientes resultados (tabla 55):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE (ANIMALES QUE NO SOBREVIVIERON)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
Hct (%)	15,25	15,25	6,435	10,7	19,8
RBC (millones/ μ l)	2,40	2,40	1,025	1,68	3,13
Hb (g/dl)	7,35	7,35	1,061	6,6	8,1
MCV (fL)	63,3	63,3	0,283	63,1	63,5
MCH (pg)	32,76	32,76	9,518	26,03	39,49
MCHC (g/dl)	36,10	36,10	1,414	35,1	37,1
RDW (%)	16,40	16,40	0,707	15,9	16,9
Recuento reticulocitos (miles/ μ l)	97,50	97,50	86,691	36,2	158,8
% de reticulocitos	5,35	5,35	5,869	1,2	9,5
Valor absoluto reticulocitos corregido (miles/ μ l)	11,53	11,53	5,049	7,96	15,10
WBC (miles/ μ l)	3,67	3,67	2,454	1,93	5,42
Recuento linfocitos (miles/ μ l)	1,06	1,06	0,262	0,88	1,25
Recuento monocitos (miles/ μ l)	0,30	0,30	0,000	0,30	0,30
Recuento neutrófilos (miles/ μ l)	2,32	2,32	2,284	0,71	3,94
Recuento eosinófilos (miles/ μ l)	0,12	0,12	0,141	0,02	0,22
Recuento basófilos (miles/ μ l)	0,03	0,03	0,014	0,02	0,04
Recuento plaquetas (miles/ μ l)	19,50	19,50	17,678	12	32
MPV (fL)	22,04	22,04	1,810	20,76	23,32
PDW (%)	29,05	29,05	0,636	28,6	29,5

Tabla 55: Valores medios de los parámetros hematológicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave que no sobrevivieron

Todos los animales que no sobrevivieron tenían anemia en el momento del diagnóstico de la babesiosis (tablas 54 y 55). En cuanto a la gravedad de esta anemia, además de en los dos pacientes con babesiosis no complicada grave, ésta también fue grave en 5 de los 11 pacientes con babesiosis complicada, con unos valores de hematocrito inferiores al 20%. En todos los casos la anemia fue normocítica, normocrómica y no regenerativa.

El recuento total de glóbulos blancos fue muy variable en el grupo de babesiosis complicada, ya que 4 de los pacientes presentaban leucopenia y 3 leucocitosis. Los valores del resto de la serie blanca también mostraron una elevada variabilidad, como destaca el hecho de que la neutropenia, la neutrofilia, la linfopenia, la eosinopenia y la monocitosis estuvieron presentes. En el caso de los dos pacientes con babesiosis no complicada grave, ambos mostraban leucopenia en el momento del diagnóstico y, en uno de los casos, también estaba presente la neutropenia y la eosinopenia.

En cuanto al recuento de plaquetas, el valor medio de los dos grupos mostró trombocitopenia, no obstante, esta trombocitopenia fue leve en el caso de los pacientes con babesiosis complicada y grave en los pacientes no complicados graves. Los valores medios de los índices plaquetarios, tanto del MPV como del PDW, estuvieron por encima de sus valores considerados como normales en los dos grupos.

5.4.3. VARIABLES BIOQUÍMICAS

A continuación exponemos, en las tablas 56 y 57, los resultados medios obtenidos respecto al estudio bioquímico efectuado en los animales que no sobrevivieron:

BABESIOSIS COMPLICADA (ANIMALES QUE NO SOBREVIVIERON)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
ALP (U/l)	179,09	161,00	82,336	53	304
ALT (U/l)	91,00	93,00	55,060	19	198
BILT (mg/dl)	1,48	1,60	1,201	0,1	3,3
BUN (mg/dl)	90,91	130,00	48,428	17,0	130,0
CREA (mg/dl)	3,13	3,40	2,14	0,3	6,8
GLU (mg/dl)	130,91	120,00	41,394	80	220
PT (g/dl)	7,05	6,80	1,433	5,1	9,1

Tabla 56: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis complicada que no sobrevivieron

En cuanto a los pacientes con babesiosis no complicada grave tenemos (tabla 57):

BABESIOSIS NO COMPLICADA GRAVE (ANIMALES QUE NO SOBREVIVIERON)					
	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
ALP (U/l)	109,00	109,00	36,770	83	135
ALT (U/l)	23,00	23,00	18,385	10	36
BILT (mg/dl)	0,25	0,25	0,212	0,1	0,4
BUN (mg/dl)	82,00	82,00	11,313	74,0	90,0
CREA (mg/dl)	0,40	0,40	0,141	0,3	0,5
GLU (mg/dl)	170,00	170,00	118,79	86	254
PT (g/dl)	5,45	5,45	1,202	4,6	6,3

Tabla 57: Valores medios de los parámetros bioquímicos de los pacientes con babesiosis no complicada grave que no sobrevivieron

Como podemos observar en las tablas 56 y 57 los valores medios de la fosfatasa alcalina y de la alanina aminotransferasa mostraban concentraciones normales en los dos grupos, mientras que la bilirrubina total estaba elevada en los pacientes con babesiosis complicada. Sin embargo, mientras los valores de estos tres parámetros se hallaron dentro de la normalidad en los dos pacientes con babesiosis no complicada grave que no sobrevivieron, en el caso de los pacientes con babesiosis complicada encontramos 4 perros con elevación de la fosfatasa alcalina, 2 con valores elevados de la alanina aminotransferasa y 7 con los valores de la bilirrubina total incrementados.

En lo referente a los parámetros indicativos de una posible afección renal, hemos encontrado una elevación del valor del nitrógeno ureico sanguíneo en ambos grupos, mientras que la creatinina sérica apareció únicamente incrementada en el grupo de pacientes con babesiosis complicada. Así, de los 11 pacientes que integran este grupo, 7 presentaron valores elevados de creatinina. Por lo que un 53,85% de los animales que no sobrevivieron tenían una creatinina sérica elevada.

La concentración media de glucosa apareció elevada en los dos grupos. Seis de los pacientes que no sobrevivieron presentaban hiperglucemia, 5 del grupo con babesiosis complicada y 1 del grupo con babesiosis no complicada grave, lo que supone un 46,15% del total de muertos. Ninguno de los perros que no sobrevivieron presentó hipoglucemia.

Los valores medios de la concentración sérica de proteínas totales estaban dentro de la normalidad. Sin embargo, dos de los pacientes con babesiosis complicada y uno con babesiosis no complicada grave que no sobrevivieron presentaban una leve hipoproteinemia. La hiperproteinemia también apareció en 3 de los pacientes con babesiosis complicada.

5.4.4. VARIABLES ECOGRÁFICAS

La realización de la ecografía abdominal no fue posible en todos los pacientes que no sobrevivieron debido a la gravedad de su estado en el momento del diagnóstico. Así, en el grupo con babesiosis complicada únicamente pudo llevarse a cabo en 7 de los 11 perros que no sobrevivieron a la infección, mientras que en el grupo con babesiosis no complicada grave no se llegó a realizar en ninguno de los casos.

De estos 7 pacientes con babesiosis complicada a los que se les realizó la ecografía abdominal, tres de ellos tenían fallo renal, dos fallo renal y fallo hepático, uno fallo hepático y edema pulmonar y otro signos neurológicos. En estos animales encontramos las siguientes lesiones en la exploración ecográfica (tabla 58):

BABESIOSIS COMPLICADA (ANIMALES QUE NO SOBREVIVIERON)				
LESIONES ESPLÉNICAS	Difusas	Esplenomegalia difusa	7	100%
		Alteraciones de la ecotextura	7	100%
		Alteraciones de la ecogenicidad	7	100%
	Focales		0	0%
LESIONES HEPÁTICAS	Difusas	Hepatomegalia	3	42,9%
		Alteraciones de la ecotextura	0	0%
		Alteraciones de la ecogenicidad	4	57,1%
	Focales		0	0%
LESIONES RENALES	Difusas	Alteraciones de la ecotextura	0	0%
		Alteraciones de la ecogenicidad	5	71,4%
	Focales		0	0%

Tabla 58: Número y porcentaje de animales con babesiosis complicada que no sobrevivieron y que presentaban lesiones en la exploración ecográfica

Como podemos observar en la tabla 58 las lesiones esplénicas estaban presentes en la totalidad de los animales que no sobrevivieron, mientras que las lesiones renales fueron las segundas más prevalentes con un 71,4% y las hepáticas aparecieron en el 57,1% de estos animales.

En lo referente a la hemodinámica renal, en estos perros únicamente fue posible obtener los valores de los índices de resistencia (tabla 59):

BABESIOSIS COMPLICADA (ANIMALES QUE NO SOBREVIVIERON)						
	n	Media	Mediana	DT	Mínimo	Máximo
IR del riñón izquierdo	7	0,726*	0,720	0,064	0,61	0,80
IR del riñón derecho	7	0,722*	0,730	0,087	0,59	0,82

Tabla 59: Valores medios del índice de resistencia renal de los pacientes con babesiosis complicada que no sobrevivieron. (*) diferencias significativas respecto al grupo control

Los índices de resistencia de los animales que no sobrevivieron estaban significativamente elevados respecto al grupo control.

DISCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

La discusión ha sido estructurada siguiendo el mismo esquema del bloque de resultados con el fin de facilitar su comprensión.

6.1. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS GLOBALES OBTENIDOS

Como ya se ha indicado, en este estudio han sido incluidos un total de 104 perros diagnosticados de babesiosis mediante la detección de los hemoparásitos en extensiones sanguíneas. Todos los animales procedían de la Comunidad Autónoma de Galicia y eran pacientes habituales de nuestro Hospital, por lo que su historial clínico fue estudiado con detenimiento, con el fin de no incluir en el estudio a ningún perro que hubiese padecido alguna enfermedad que pudiese ser la responsable de alguna de las lesiones encontradas y desvirtuar, de esta manera, nuestros resultados.

6.1.1. DISTRIBUCIÓN DE LOS ANIMALES EN FUNCIÓN DE SU RAZA, SEXO Y AMBIENTE

En la actualidad la existencia o no de predisposición racial en la babesiosis canina no está todavía esclarecida. En Estados Unidos han encontrado cierta predisposición de los Galgos a la infección por *Babesia canis* (Taboada *et al.*, 1992; Taboada y Lobetti, 2006), mientras que en Hungría es el Pastor Alemán la raza que parece mostrar esta enfermedad con más frecuencia (Hornok *et al.*, 2006). En nuestro estudio han sido incluidos 70 perros de 27 razas diferentes y 34 mestizos (32,7%). Las razas más representadas han sido el Bóxer (9,6%) y el Setter Inglés (9,6%) con 10 pacientes cada una, seguidas del Cocker Spaniel con 5 (4,8%) (gráfica 1). El alto porcentaje de animales mestizos refleja los datos generales que maneja nuestro Hospital en relación al número total de visitas, dónde

los mestizos suponen un 38,9%. Debemos destacar que sólo 3 del total de los pacientes eran Pastores Alemanes, a pesar de que esta raza es muy habitual en nuestra zona de trabajo, ya que representan un 7,8% del total de los perros atendidos en nuestro Hospital, lo que significa que nuestros resultados no concuerdan con los de Hornok *et al.* (2006). La ausencia de Galgos en este estudio no es sorprendente ya que esta raza representa menos del 0.1% del total de los pacientes atendidos en nuestro Hospital.

No existe en la bibliografía ningún estudio que justifique la elevada frecuencia del Bóxer y el Setter Inglés en este trabajo, estando estos resultados en contradicción con otro estudio llevado a cabo por nuestro grupo de investigación en el año 1999, en el que ninguna raza destacaba de manera significativa sobre las demás (Goicoa *et al.*, 1999a). De todos modos, debemos señalar que el Bóxer es la segunda raza más frecuente en nuestro hospital, representando un 5,3%, mientras que el Setter Inglés no llega al 3%. En lo que respecta al Setter Inglés, es importante indicar que en varios estudios sobre la babesiosis canina llevados a cabo en Italia aparece también como la raza más representada (Furlanello *et al.* 2005; Solano-Gallego *et al.*, 2008), lo que puede deberse a que tanto en Italia como en España es una de las razas más utilizadas por los cazadores, presentando de esta manera un mayor riesgo de contraer la enfermedad. Este argumento no es válido en el caso del Bóxer, ya que son perros que habitualmente viven en el interior de las casas y cuyo fenotipo no hace especialmente difícil la detección de los ectoparásitos por parte de los propietarios, por lo que su elevada presencia en el estudio posiblemente se deba únicamente al elevado número de perros de esta raza que existe en nuestra zona de trabajo.

Ante estos resultados debemos indicar la necesidad de sopesar, en futuros estudios llevados a cabo en la babesiosis canina, el papel que puedan tener razas como el Bóxer o el Setter Inglés, con el fin de confirmar la presencia de una posible predisposición racial de alguna de ellas.

Agrupando los animales enfermos en función del sexo los machos suponen un mayor porcentaje (63,46%) que las hembras (gráfica 3), al igual que en otros estudios realizados con anterioridad (Pagès y Trouillet, 1984; Goicoa *et al.*, 1999a; Cabannes *et al.*, 2002; Furlanello *et al.*, 2005; Hornok *et al.*, 2006 y Máthé *et al.*, 2006a). Es importante destacar que a lo largo del año en nuestro hospital se reciben prácticamente el mismo número de hembras que de machos, 49% y 51% respectivamente. No obstante, creemos, al igual que Máthé *et al.* (2006a), que este mayor porcentaje de machos en nuestro trabajo puede deberse a los hábitos de los propietarios más que a una posible predisposición de género, ya que la mayoría de los perros que viven en un ambiente rural o son dedicados a la caza en nuestra zona son machos.

En lo que respecta al ambiente habitual de los perros de nuestro estudio observamos que el 18% viven en casa, un 38% en el campo, un 18% comparten ambos ambientes y un 25% pasan largos períodos de tiempo en el monte ya que están destinados a la caza (gráfica 4). El hecho de que el mayor porcentaje corresponda a animales que viven en el campo o que son dedicados a la caza coincide con lo

descrito por Goicoa (1999) y por Camacho (2004a) en estudios realizados con anterioridad en esta misma zona y puede estar justificado por el mayor riesgo epidemiológico que presentan estos animales a una infección por *Babesia*, al permanecer más tiempo expuestos a las garrapatas y, posiblemente, al existir un menor control de los ectoparásitos por parte de sus propietarios.

6.1.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS ESTUDIADAS

Como podemos observar en la gráfica 2, a diferencia de los estudios llevados a cabo en Estados Unidos y Australia con perros infectados por *Babesia canis vogeli*, en donde la babesiosis afecta típicamente a los perros jóvenes (Irwin y Hutchinson, 1991; Taboada y Merchant, 1991; Taboada, 1998), nosotros hemos encontrado animales enfermos de todas las edades, con un mayor porcentaje de perros con edades superiores a los 5 años. Estos resultados coinciden con la mayoría de los estudios realizados en Europa, concretamente en Francia por Cabannes *et al.* (2002), en Italia por Furlanello *et al.* (2005) y en Hungría por Hornok *et al.* (2006). Especialmente interesante es el estudio llevado a cabo en el suroeste de Francia ya que incluye un total de 989 perros enfermos de babesiosis, siendo aquellos con una edad superior a los 5 años los más afectados, representando un 65% del total de los animales estudiados. Esta coincidencia puede deberse a que posiblemente en los cuatro estudios la babesiosis esté causada por *Babesia canis canis*, especie más habitual en Europa y que puede provocar signos clínicos en perros de cualquier edad (Taboada, 1997; Boozer y Macintire, 2003; Camacho *et al.*, 2004a; Mathé *et al.*, 2006a). Así, la realización de un estudio por PCR para confirmar la subespecie de *Babesia canis* implicada en nuestros pacientes resultaría de gran interés para poder corroborar estos resultados.

La temperatura media que han presentado los perros de nuestro estudio (39,32 °C) está englobada dentro de lo que constituye un cuadro agudo, consistente en un aumento moderado de la temperatura corporal. Ésta es la forma clínica más habitual de presentación de esta enfermedad tanto en España como en otros países europeos donde las infecciones son causadas por *Babesia canis canis* o, menos habitualmente, por *Babesia canis vogeli*, protozoos supuestamente menos virulentos que otras subespecies conocidas como *Babesia canis rossi* (Abdullahi *et al.*, 1990; Navarrete y Nieto, 1999; Furlanello *et al.*, 2005). El estudio experimental llevado a cabo por Schetters *et al.* (2009) demostró que la fiebre es el único parámetro cuya intensidad está directamente relacionada con la concentración de antígenos parasitarios en el plasma del animal. Sin embargo, esta situación no indica que estos antígenos sean los responsables directos de este aumento de la temperatura corporal. Los antígenos parasitarios son liberados por los eritrocitos infectados cuando se produce la lisis de éstos, pero al mismo tiempo se produce la salida de los componentes alterados de los glóbulos rojos que también

pueden ser responsables del proceso febril. En este trabajo no podemos establecer una correlación entre carga parasitaria y el grado de hipertermia porque no hemos cuantificado la tasa de parasitemia, pero en nuestra experiencia clínica, no hay una correlación directa entre fiebre y presencia de un mayor número de hemoparásitos.

Por tanto, podemos afirmar que la fiebre es uno de los signos clínicos más habitualmente asociados a la babesiosis canina, si bien suele tratarse de aumentos moderados de la temperatura corporal que no requieren un tratamiento específico.

La media obtenida para la presión arterial sistólica ha sido de $116,39 \pm 30,28$ mmHg (tabla 13), valor que se encuentra por debajo del considerado como normal por los distintos autores que han utilizado el método Doppler (Chalifaux *et al.*, 1985; Remillard *et al.*, 1991; Stepien *et al.*, 1999). Sin embargo, estos valores no son lo suficientemente bajos como para poder hablar de hipotensión, en función de los límites determinados por Erhardt *et al.* (2003) y Waddell (2007). Este valor medio es muy similar al encontrado con anterioridad en un estudio realizado por nuestro grupo de investigación con 30 perros con babesiosis (Fraga *et al.*, 2007a), donde la media fue de 118 ± 33 mmHg. Estos resultados confirman una clara tendencia a la hipotensión en los animales afectados de babesiosis y coinciden con los encontrados por Jacobson *et al.* (2000) en Sudáfrica, donde la hipotensión fue el hallazgo más frecuente y ésta era más severa conforme aumentaba la gravedad de la enfermedad, siendo los perros con babesiosis complicada los más afectados.

En el estudio experimental realizado por Schetters *et al.* (2009), con 10 perros de raza Beagle, encontraron que este descenso de la presión arterial dependía de la dosis infectiva que se les administraba a los animales, alcanzando hipotensiones críticas en aquellos perros que recibían concentraciones muy elevadas. El mecanismo por el cual se produce esta hipotensión en la babesiosis canina no está perfectamente esclarecido, pero se entiende que puede ser una combinación de factores incluyendo la vasodilatación, la reducción del volumen circulante producido por el incremento de la permeabilidad vascular y/o la disminución de la funcionalidad miocárdica (Jacobson *et al.*, 2000; Lobetti y Jacobson, 2001). Además, Schetters *et al.* (2009) proponen que la desgranulación de las plaquetas que provoca la infección por *Babesia canis* induce la liberación de moléculas vasoactivas como la serotonina, que junto con las quininas, resultante de la activación de la calicreína, disminuyen la presión arterial.

Un 66,35% de los perros incluidos en este trabajo presentan un reflejo doloroso a la palpación abdominal (gráfica 5), porcentaje que es muy superior al encontrado por Máthé *et al.* (2006a) en Hungría, que fue de sólo un 13%. Este reflejo puede ser atribuido a distintos factores como son la esplenomegalia, derivada de la alteración que produce la babesiosis canina en el sistema monocitofagocitario (Breitschwerdt, 1984; Irwin y Hutchinson, 1991; Máthé *et al.*, 2006a; Máthé *et al.*, 2006b; Taboada y Lobetti, 2006; Couto, 2009; Lappin, 2009), cuyo dolor, de grado variable, se

asocia a la distensión de la cápsula esplénica (Castro y Ayuso, 2003); la pancreatitis aguda (Mohr *et al.*, 2000), o las alteraciones gastrointestinales asociadas a la azotemia (Cowgill y Francey, 2007). Este resultado indica que el dolor abdominal es un hallazgo a tener muy en cuenta en aquellos perros sospechosos de padecer babesiosis.

6.1.3. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES HEMATOLÓGICAS ESTUDIADAS

En este estudio se han estructurado las variables hematológicas en función de la serie roja, la serie blanca y las plaquetas para facilitar su discusión.

6.1.3.1. SERIE ROJA

Como podemos observar en la tabla 14 la mayoría de los pacientes presentaban anemia en el momento de la consulta, con un descenso del recuento total de eritrocitos ($4,05 \pm 1,46$ millones/ μ l), del valor hematocrito ($26,67 \pm 9,82$ %) y de la concentración de hemoglobina ($11,45 \pm 3,89$ g/dl). Estos descensos, junto con valores medios de los índices eritrocitarios normales y un valor absoluto medio de reticulocitos corregido, todos ellos dentro de la normalidad (tabla 9), nos confirman que estamos ante una anemia normocítica, normocrómica y arregenerativa, característica del cuadro agudo de la enfermedad provocada por *Babesia canis* (Taboada y Merchant, 1991; Furlanello *et al.*, 2005; Taboada y Lobetti, 2006). Es importante señalar que ninguno de los animales estudiados tenía evidentes signos de regeneración, por lo que nuestros resultados coinciden con los descritos en un estudio experimental por Vercammen *et al.* (1997), en el que ninguno de los animales mostraba regeneración eritrocitaria en el momento de la infección.

La babesiosis está considerada unánimemente como una causa de anemia (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998; Navarrete y Nieto, 1999; Boozer y Macintire, 2003; Camacho *et al.*, 2004a; Taboada y Lobetti, 2006), si bien, en ocasiones esta anemia no está presente en el momento de su diagnóstico (Bourdeau y Guelfi, 1995). En nuestro estudio, 90 perros (86,5%) presentaban anemia y únicamente 14 de ellos (13,5%) tenían valores dentro de la normalidad. En un trabajo reciente, se ha observado una gran variación en la frecuencia y el tipo de anemia en función de la subespecie de *Babesia canis* implicada, así en los perros infectados por *B. canis canis* la anemia aparecía en un 92% de los casos y era no regenerativa en la gran mayoría de ellos (94%), mientras que en los animales infectados por *B. canis vogeli* la anemia era menos frecuente (67%) y, cuando aparecía, mostraba signos de regeneración de leves a moderados (Carli *et al.*, 2009). Por lo que estos resultados sugieren que la *Babesia* implicada en nuestro caso es *Babesia canis canis*, coincidiendo con Ruiz de Gopegui *et*

al. (2007) en un trabajo realizado en esta misma zona, aunque, como ya se ha comentado, sería necesaria la realización de un estudio genético (PCR) para poder confirmarlo.

Los mecanismos por los cuales se produce esta anemia pueden ser muy diversos, incluyendo factores mecánicos, inmunomediados y tóxicos, mediante la producción de factores hemolíticos por parte del parásito (Onishi *et al.*, 1990; Bourdeau y Guelfi, 1995). Se ha propuesto que la alteración producida directamente por los hemoparásitos es la más significativa en la patogenia de la hemólisis, pero también hay que tener en cuenta que la destrucción inmunomediada de los eritrocitos juega un papel muy importante (Taboada y Merchant, 1991; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2009). De hecho, según diferentes autores, la anemia presente en los animales infectados no siempre es proporcional al grado de parasitemia; así, animales con una importante parasitemia pueden no presentar anemia, mientras que otros en los que se detectan pocos parásitos pueden estar muy anémicos, lo que refleja la existencia de un componente inmunomediado (Camacho *et al.*, 2004a; Taboada y Lobetti, 2006; Lappin, 2007; Lappin, 2009). En el estudio experimental llevado a cabo por Schetters *et al.* (2009) el valor del hematocrito de todos los perros infectados no disminuía de forma proporcional a la tasa de parasitemia, observando descensos del 40-50% del valor hematocrito cuando la parasitemia no alcanzaba el 1%. En este estudio otros de los mecanismos propuestos para justificar la anemia son la hemodilución y el secuestro eritrocitario, en lugar de la lisis eritrocitaria (Schetters *et al.*, 1997b; Schetters *et al.*, 2009).

Nuestros resultados confirman que la anemia normocítica, normocrómica y arregenerativa es uno de los hallazgos más constantes en los perros infectados por *Babesia canis* en Galicia.

6.1.3.2. SERIE BLANCA

En lo referente a la serie blanca, nuestros resultados medios están dentro del rango considerado como normal para esta especie según el método utilizado en nuestro laboratorio, pero destacan los valores máximos y mínimos, que oscilan desde la leucocitosis a la leucopenia, como ocurre con el resto de líneas celulares que integran la serie blanca (tabla 14). Estos resultados son similares a los descritos por distintos autores consultados, los cuales coinciden en sus discrepancias en cuanto al papel y el valor clínico y pronóstico de la serie blanca en esta enfermedad (Abdullahi *et al.*, 1990; Taboada y Merchant, 1991; Boozer y Macintire, 2003; Dantas-Torres y Figueredo, 2006; Niwetpathomwat *et al.*, 2006; Taboada y Lobetti, 2006; Fraga *et al.*, 2008b).

La leucopenia, presente en un 51,9% de los perros de nuestro estudio, y la neutropenia, que apareció en un 26%, son hallazgos comunes en los perros infectados por *Babesia canis* (Vercammen *et al.*, 1997; Furlanello *et al.*, 2005; Máthé *et al.*, 2006a; Máthé *et al.*, 2006b; Zygnier *et al.*, 2007; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007; Fraga *et al.*, 2008b) y su prevalencia puede llegar hasta el 69% y 74%

respectivamente según el estudio realizado por Furlanello *et al.* (2005). Se piensa que estos descensos en los valores de la serie blanca pueden deberse a que los leucocitos se encuentren situados fuera de la sangre periférica circulante, secuestrados por el bazo, más que a una depleción real o estasis vascular (Mathé *et al.*, 2006a). La leucopenia también puede ser observada en el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) descrito en la babesiosis y está incluida dentro los criterios para el diagnóstico de sepsis en perros (Furlanello *et al.*, 2005). El secuestro pulmonar es otra de sus posibles causas (Boozar y Macintire, 2003). Sin embargo, la significación clínica y el mecanismo subyacente de la neutropenia, linfopenia y eosinopenia encontradas en estos pacientes son desconocidos en la actualidad y tampoco hemos encontrado en este trabajo ningún hallazgo que justifique esta situación.

La leucocitosis apareció en 7 de los perros (6,7%) y su porcentaje es similar al encontrado en Italia (4,3%) por Furlanello *et al.* (2005) y levemente inferior al descrito por Ruiz de Gopegui *et al.* (2007) en estudios previos realizados en nuestra zona de trabajo (13%) y por Zygnier *et al.* (2007) en Polonia (14,9%). Se ha señalado que esta leucocitosis puede tratarse en ocasiones de una reacción leucemoide, es decir, una leucocitosis reactiva que aparece como forma de respuesta medular a la enfermedad subyacente, similar a aquella que se produce con las anemias hemolíticas inmunomediadas (Lobetti, 1995; Taboada y Lobetti, 2006).

6.1.3.3. PLAQUETAS

Como es sabido el recuento plaquetario siempre ha sido un parámetro importante en la valoración de la babesiosis canina (Pagès y Trouillet, 1984; Abdullahi *et al.*, 1990; Irwin y Hutchinson, 1991; Taboada, 1997; Duh *et al.*, 2004; Baric Rafaj *et al.*, 2005; Furlanello *et al.*, 2005; Niwetpathomwat *et al.*, 2006; Taboada y Lobetti, 2006; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007; Zygnier *et al.*, 2007; Solano-Gallego *et al.*, 2008; Adaszek *et al.*, 2009). De esta manera, la trombocitopenia moderada (< 50.000 plaquetas/ μ l) fue uno de los principales hallazgos de este estudio, la cual es su forma de presentación más frecuente en la babesiosis canina (Pagés *et al.*, 1990; Bourdeau y Guelfi, 1995; Furlanello *et al.*, 2005), y que se corresponde con el cuadro agudo con el que llegan la mayoría de los perros a nuestra consulta. No obstante, ninguno de los pacientes mostró síntomas asociados a la trombocitopenia a lo largo del desarrollo de este estudio, a pesar de que un 26,9% de los perros tenían una trombocitopenia grave en función de la clasificación propuesta por Furlanello *et al.* (2005). Es importante señalar que tan sólo 3 de los animales presentaron un recuento de plaquetas normal, por lo que el porcentaje de trombocitopenia en el estudio fue del 97,1%, resultado similar al descrito por Zygnier *et al.* (2007), cuyo porcentaje fue del 99,5%.

El mecanismo por el cual se produce este descenso del número de plaquetas en la babesiosis canina no se conoce todavía con exactitud. Distintos autores apuntan que puede deberse al secuestro

esplénico, a la acción de anticuerpos antiplaquetarios, o bien, a un consumo elevado en los casos de CID (Pagès y Trouillet, 1984; Boozer y Macintire, 2003), o en aquellos animales en los que se producen graves daños vasculares (Taboada y Lobetti, 2006; Solano-Gallego, 2008a). En el estudio experimental llevado a cabo por Schetters *et al.* (2009) encontraron que el número de plaquetas era el parámetro que se veía más afectado tras la infección de los perros con *Babesia canis*, ya que prácticamente desaparecían de las muestras sanguíneas dos días después de la inoculación del hemoparásito. En ese estudio observaron una correlación significativa entre la concentración de fibrinógeno en plasma y la disminución del número de plaquetas circulantes; por lo que sugieren la hipótesis de que la infección por *Babesia* provoca una respuesta de fase aguda en el perro, evidenciada por el aumento de las concentraciones de la proteína C reactiva y del fibrinógeno y por el desarrollo de fiebre. El incremento del fibrinógeno provoca la agregación plaquetaria y la activación de la coagulación, que resulta finalmente en un aumento de los tiempos de coagulación.

Para concluir, podemos afirmar, al igual que han hecho otros autores como Pagès (1984) y Kettner (2003), que esta trombocitopenia tan marcada y constante puede ayudar, junto con la exploración clínica, al diagnóstico presuntivo de la enfermedad en zonas endémicas o en aquellos animales en los que no se ha podido observar el protozoo en sangre periférica, aunque los restantes valores hemáticos que presente el perro afectado se encuentren dentro de la normalidad.

En referencia a los índices plaquetarios, tenemos que destacar que el MPV está claramente incrementado (18,6 fL) en el 83,6% de los pacientes, siendo normalmente inferior a 15-17 fL, coincidiendo con los estudios realizados por Kettner en Sudáfrica (2003) y por Baric Rafaj *et al.* (2005), Furlanello *et al.* (2005), Ruiz de Gopegui *et al.* (2007), Zygnier *et al.* (2007) y Fraga *et al.* (2009) en Europa, lo que refleja el carácter regenerativo de la trombocitopenia. El valor medio del PDW (28,3%) está aumentado en todos los perros del estudio, siendo normalmente inferior al 15-18%. Se ha señalado que el PDW es un indicador más sensible que el MPV a la hora de valorar un incremento del número de plaquetas gigantes en sangre periférica, ya que el valor del MPV puede verse disminuido por la presencia, al mismo tiempo, de plaquetas pequeñas y restos celulares (Bommer *et al.*, 2008). En un estudio llevado a cabo por nuestro grupo de investigación con 86 perros afectados de babesiosis, se encontró un incremento del MPV en el 50% de los perros, mientras que el PDW estaba elevado en el 100% de los pacientes. No apareció ninguna relación significativa entre el recuento plaquetario y estos dos parámetros, pero sí una relación no lineal positiva entre el MPV y el PDW, lo que confirma que el incremento de la heterogeneidad plaquetaria en la babesiosis canina se debe a una elevación en la proporción de plaquetas gigantes (Fraga *et al.*, 2009). Estos resultados indican que los índices plaquetarios pueden tener un elevado valor para el diagnóstico y el pronóstico de la babesiosis.

6.1.4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES BIOQUÍMICAS ESTUDIADAS

Al igual que en el caso de las variables hematológicas, hemos estructurado en grupos las variables bioquímicas para facilitar su comprensión. En un primer grupo incluimos los parámetros que valoran la implicación hepática: fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa y bilirrubina total; en un segundo grupo los parámetros utilizados para valorar la función renal: nitrógeno ureico sanguíneo y creatinina; y en un último grupo la concentración de glucosa y las proteínas totales.

6.1.4.1. CONCENTRACIONES DE FOSFATASA ALCALINA, ALANINA AMINOTRANSFERASA Y BILIRRUBINA TOTAL

Las concentraciones medias de la fosfatasa alcalina ($162,41 \pm 101,50$ U/l), de la alanina aminotransferasa ($76,67 \pm 74,18$ U/l) y de la bilirrubina total ($0,77 \pm 0,95$ mg/dl) están dentro de los intervalos considerados normales (tabla 15), hecho que coincide con otros estudios realizados en distintas zonas de Europa (Pagès *et al.*, 1990; Furlanello *et al.*, 2005; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007). Sin embargo, debemos tener en cuenta que el valor de estas enzimas tiene una gran variabilidad en función del paciente.

Ante estos resultados es importante destacar que estos perros enfermos de babesiosis no presentaban insuficiencia hepática en el momento del diagnóstico. Especialmente llamativo es el valor de la bilirrubina total, ya que sus niveles séricos en perros con babesiosis aguda provocada por *Babesia canis* suelen aparecer elevados (Pagés *et al.*, 1990; Irwin y Hutchinson, 1991; Bourdeau y Guelfi, 1995; Vercammen *et al.*, 1997; Lobetti, 2000; Furlanello *et al.*, 2005; Bourdoiseau, 2006; Solano-Gallego *et al.*, 2008), sobre todo en aquellos pacientes con anemia grave (Reyers *et al.*, 1998), sin embargo, en nuestro estudio únicamente 12 de los 104 perros presentaron los valores séricos de bilirrubina total aumentados, lo que supone un 11,5%. En consecuencia, podemos afirmar que la valoración global de la existencia o no de lesiones hepáticas mediante la utilización de estos parámetros bioquímicos no ha aportado datos relevantes en este estudio y que su utilidad puede ser mayor a la hora de valorar cada caso en particular.

6.1.4.2. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO SANGUÍNEO Y CREATININA

En este trabajo hemos obtenido unos niveles medios elevados del BUN ($42,53 \pm 36,66$ mg/dl), mientras que los valores medios de creatinina ($1,15 \pm 1,05$ mg/dl) se mantienen dentro del rango

considerado como normal en nuestro laboratorio (tabla 15). Estos resultados coinciden con los estudios llevados a cabo por de Scally *et al.* (2004), Furlanello *et al.* (2005), Mathé *et al.* (2006b), Niwetpathomwat *et al.* (2006) y Ruiz de Gopegui *et al.* (2007). Según proponen Lobetti y Jacobson (2001) este aumento de los niveles del nitrógeno ureico sanguíneo sin un incremento concomitante de la creatinina obedece al catabolismo de los eritrocitos lisados, capaces de provocar un aumento de la producción de urea en el hígado, o también, puede ser atribuido a un incremento generalizado del catabolismo proteico desencadenado por la enfermedad. Por lo que, en ningún caso, este aumento aislado será útil para valorar una insuficiencia renal en perros con babesiosis (Lobetti y Jacobson, 2001; de Scally *et al.*, 2004; de Scally *et al.*, 2006; Lobetti, 2007b).

No obstante, al igual que en el apartado anterior, los resultados obtenidos para estos dos parámetros fueron muy variables en función de la situación de cada paciente, como podemos observar en los máximos y mínimos de cada uno de ellos en la tabla 15. Esta situación la abordaremos en detalle en la discusión de los resultados en función del grado de complicación de la enfermedad.

6.1.4.3. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y PROTEÍNAS TOTALES

Los niveles plasmáticos medios para la glucemia ($114,02 \pm 30,33$ mg/dl) y las proteínas totales ($6,59 \pm 1,25$ g/dl) han resultado normales (tabla 15), coincidiendo con otro estudio realizado recientemente en nuestra zona de trabajo (Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007).

En este estudio sólo un perro mostraba hipoglucemia (0,9%), lo cual empeora el pronóstico del paciente (Button, 1979; Leisewitz *et al.*, 2001; Keller *et al.*, 2004; Nel *et al.*, 2004; Jacobson y Lobetti, 2005). A pesar de nuestros resultados, según la bibliografía la hipoglucemia es un hallazgo frecuentemente asociado al cuadro clínico de la babesiosis, por lo que debe ser rápidamente evaluada y tratada (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998; Keller *et al.*, 2004; Nel *et al.*, 2004; Jacobson y Lobetti, 2005). Aunque debemos señalar que prácticamente todos estos estudios han sido realizados en Sudáfrica, donde la infección es causada por *Babesia canis rossii*, una subespecie más patógena que la que, posiblemente, es endémica en Galicia, *Babesia canis canis* (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998). La fisiopatología de esta hipoglucemia no está claramente descrita para la babesiosis y se han apuntado como posibles causas el incremento del consumo de glucosa, el agotamiento de los depósitos de glucógeno hepático o la disfunción hepática con afectación de la gluconeogénesis (Rees y Schoeman, 2008).

Por otro lado, 13 de los perros de nuestro estudio (12,5%) mostraron valores de glucosa superiores al rango establecido como normal. La hiperglucemia también es frecuente en la babesiosis canina, aunque nunca es grave, y suele tener como causas un incremento de la movilización de la glucosa y el estrés. También puede aumentar su concentración debido a un incremento de la secreción

de cortisol (Keller *et al.*, 2004; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007). Sin embargo, al contrario que la hipoglucemia y a pesar de ser más frecuente que ésta, según un estudio realizado en Sudáfrica la hiperglucemia no es un buen indicador de la gravedad de la enfermedad (Keller *et al.*, 2004). Es importante señalar que los resultados de este trabajo no coinciden con los obtenidos por Keller *et al.* (2004), aunque este hecho será discutido en posteriores apartados en los que se valorará la evolución de los pacientes.

En lo que se refiere a las proteínas totales un 11,5% de los pacientes (12 perros) presentaba hipoproteinemia en el momento del diagnóstico, mientras que un 10,6% (11 perros) presentó hiperproteinemia. El descenso de las proteínas séricas ha sido descrito en un estudio llevado a cabo con perros infectados por *Babesia canis rossi* que padecían la forma no complicada de la enfermedad. En este caso apreciaron un descenso tanto de la albúmina, del ratio albúmina/globulinas así como de las α globulinas (Lobetti *et al.*, 2000). No obstante, normalmente los cambios plasmáticos que suelen observarse en el caso de las proteínas afectan a una de sus fracciones, albumínica o globulínica (Maegraith, *et al.*, 1957; Tella y Maegraith, 1965; Goicoa *et al.*, 1992), por lo que sería conveniente realizar un estudio más específico de las proteínas plasmáticas mediante electroforesis para poder analizar con una mejor precisión el papel que juegan en esta enfermedad. Así, en un estudio llevado a cabo por nuestro grupo de investigación, la albúmina se mantenía dentro de sus valores considerados como normales, mientras que aparecía un incremento tanto de las α como de las β globulinas (Goicoa *et al.*, 1992). El aumento de la concentración de las proteínas es probable que sea una hiperproteinemia relativa, con una elevación tanto de la albúmina como de las globulinas por encima de sus valores de referencia, asociada a la hipovolemia que aparece en estos animales por la deshidratación causada por la babesiosis canina (Navarrete y Nieto, 1999; Urquhart *et al.*, 2001; Boozer y Macintire, 2003; Taylor *et al.*, 2007). No obstante, también puede deberse a un incremento de la producción de globulinas, que ocurre en una gran variedad de situaciones clínicas, pero sobre todo en casos de enfermedades neoplásicas, inflamatorias o infecciosas, entre las que se incluye la babesiosis canina (Couto, 2009).

6.1.5. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES ECOGRÁFICAS ESTUDIADAS

En la actualidad, la información disponible sobre los cambios ecográficos observados en los órganos abdominales de perros con babesiosis es muy limitada, ya que sólo existen dos estudios realizados (Máthé *et al.*, 2006a; Máthé *et al.*, 2006b) con un número muy limitado de perros, 12 y 3 respectivamente. Además, en el primero de los estudios la ecografía únicamente se llevó a cabo para

valorar el hígado y los riñones en perros con babesiosis complicada, y en el segundo de ellos, dos de los perros habían sido esplenectomizados.

6.1.5.1. LESIONES ESPLÉNICAS

Como podemos observar en la tabla 17, las lesiones esplénicas son las que tuvieron una mayor prevalencia ya que las presentaron un 87,5% de los perros estudiados. Siempre se trataba de lesiones de carácter difuso que podían conllevar un aumento del tamaño del órgano, así como alteraciones de la ecotextura o de la ecogenicidad. En ningún caso se encontraron lesiones focales en el parénquima esplénico ni se vio alterada la arquitectura ni la posición relativa del órgano. La esplenomegalia, debido a una hiperplasia del sistema monocítico-fagocitario, es un hallazgo frecuente en perros infectados por *Babesia canis* (Breitschwerdt, 1984; Pagés *et al.*, 1990; Irwin y Hutchinson, 1991; Máthé *et al.*, 2006a; Máthé *et al.*, 2006b; Taboada y Lobetti, 2006; Couto, 2009; Lappin, 2009) así como en otras infecciones parasitarias como las producidas por *Haemobartonella* o *Ehrlichia* (Nyland *et al.*, 2002b; Couto, 2009). Esta alteración es la más frecuente de todas las que afectan al bazo y su diagnóstico diferencial es muy complejo, por lo que, en muchos casos, la ecografía no es útil para establecer un diagnóstico definitivo (Fritsch y Gerwing, 1996; Nyland *et al.*, 2002b). Por lo general, el parénquima esplénico es homogéneo, con un patrón de ecotextura fino y con un nivel de ecogenicidad de medio a alto (Loriot *et al.*, 1997; Nyland *et al.*, 2002b). En las lesiones encontradas, la ecotextura fina se pierde y aparece más gruesa y la ecogenicidad disminuye. La esplenomegalia, el cambio en la ecotextura y la disminución de la ecogenicidad aparecieron asociados en 54 ocasiones, 3 de los animales presentaban esplenomegalia y una ecotextura gruesa, mientras que en 6 de los perros únicamente hallamos cambios en la ecotextura. Así, en función de nuestros resultados, podemos indicar que los cambios en la ecotextura esplénica es la alteración más frecuente en los perros con babesiosis, si bien, en la mayoría de los casos va acompañada de esplenomegalia y muestra un parénquima marcadamente hipoecogénico.

La congestión pasiva del bazo suele dar lugar a una esplenomegalia marcada, con un patrón del parénquima rugoso e hipoecogénico. No obstante, la ecogenicidad también puede estar normal o sólo ligeramente reducida. La congestión esplénica se produce por alteración de la circulación sistémica o portal debido a causas como la torsión esplénica parcial, la trombosis incompleta de la vena esplénica o la inflamación esplénica aguda, pudiendo después progresar a una trombosis más general, infarto y necrosis del parénquima o a la formación de abscesos. La anemia hemolítica o situaciones de toxemia también pueden dar lugar a la congestión pasiva del bazo (Nyland *et al.*, 2002b). Otras posibles causas de enfermedad no neoplásica difusa son la hematopoyesis extramedular y, de manera menos frecuente, la amiloidosis (Nyland *et al.*, 2002b; Couto, 2009). En estos casos el parénquima puede tener tanto una textura ecográfica normal como gruesa. También pueden

encontrarse regiones hipoeogénicas focales o nódulos mal definidos (Nyland *et al.*, 2002b). En estudios llevados a cabo en personas se han descrito esplenomegalias marcadas en casos de hematopoyesis extramedular, de procesos mieloproliferativos agudos y de actividad retículoendotelial aumentada, con una ecogenicidad normal o reducida del órgano (Mittelstaedt y Partain, 1980). La hematopoyesis extramedular es debida a que el bazo retiene su potencial hematopoyético fetal durante la vida adulta y, cuando aparecen determinados estímulos como pueden ser la anemia, inflamaciones esplénicas o extraesplénicas graves, infiltraciones neoplásicas del bazo, hipoplasia de la médula ósea o la congestión esplénica, puede recuperar esta función hematopoyética y producir eritrocitos, glóbulos blancos y plaquetas. Esta hematopoyesis extramedular esplénica también se ha observado en pacientes con piómetra, hemólisis inmunomediada, trombocitopenia inmunomediada, en distintas enfermedades infecciosas y en varios tipos de neoplasias malignas, así como en perros aparentemente sanos (Couto, 2009).

Por lo tanto, normalmente está indicado realizar una biopsia ecoguiada o una aspiración con aguja fina para establecer el diagnóstico final (Osborne *et al.*, 1974; O'Keefe y Couto, 1987). Esto no ha sido posible en nuestro estudio debido a la naturaleza clínica del mismo y al elevado riesgo que supone la realización de estas técnicas en animales cuyo perfil hemostático suele estar gravemente alterado (Furlanello *et al.*, 2005; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007). En el ensayo experimental llevado a cabo por Mathé *et al.* (2006b) efectuaron una punción con aguja fina del bazo de un Beagle infectado por *Babesia canis*. El estudio citológico demostró la existencia de linfoblastos, células plasmáticas inmaduras y macrófagos reactivos. También observaron eritrofagocitosis y la presencia del hemoparásito tanto dentro de los eritrocitos como de manera extracelular. Todos estos hallazgos indican que se trata de una esplenomegalia reactiva debida a una marcada reacción inmunológica.

6.1.5.2. LESIONES HEPÁTICAS

Las lesiones hepáticas fueron detectadas en 21 de los 72 perros (tabla 17), con una prevalencia del 29,2% (tabla 18) y en todos los casos consistían en lesiones difusas que conllevaban un aumento del tamaño hepático y/o una disminución de su ecogenicidad. En ningún caso encontramos alteraciones de la ecotextura hepática ni de su arquitectura. Del mismo modo, tampoco se observó ninguna lesión de carácter focal en el órgano. Así, hemos encontrado 14 perros con hepatomegalia y disminución de la ecogenicidad hepática, 2 perros que sólo presentaban un aumento del tamaño hepático y 5 que tenían un parénquima hepático hipoeogénico pero cuyo tamaño hepático era normal.

Probablemente la hepatomegalia de nuestros pacientes se deba a la afección del sistema monocitofagocitario que puede causar un considerable aumento del tamaño hepático, junto con esplenomegalia y/o linfadenopatías (Irwin y Hutchinson, 1991; Couto, 2009). Otros posibles

diagnósticos diferenciales son la hepatitis aguda (Biller *et al.*, 1992), descrita por Mathé *et al.* (2006b) en perros esplenectomizados infectados experimentalmente por *Babesia canis*, que puede ser causada por una excesiva liberación de mediadores inflamatorios (Jacobson y Clark, 1994; Lobetti, 1998), o bien, la congestión pasiva del hígado (Nyland *et al.*, 2002c) observada histológicamente en perros con *Babesia* (Jacobson y Clark, 1994) y que puede estar provocada por la hipotensión y la afección miocárdica que provoca en ocasiones esta enfermedad (Lobetti, 2005). No obstante, debemos señalar que en la gran mayoría de las lesiones hepáticas es necesaria una biopsia para poder llegar al diagnóstico definitivo (Fritsch y Gerwing, 1996; Lorient *et al.*, 1997; Nyland *et al.*, 2002c).

Todas las enfermedades hepáticas difusas descritas anteriormente pueden producir una disminución de la ecogenicidad del hígado, en la que el parénquima hepático aparece menos ecogénico que la corteza renal y los ecos periportales son más prominentes de lo usual (Nyland *et al.*, 2002c).

6.1.5.3. LESIONES RENALES

Hemos observado lesiones renales difusas en 34 animales (tabla 17), lo que supone una prevalencia del 47,2% (tabla 18). Todas las lesiones encontradas en estos perros fueron siempre bilaterales y diagnosticadas en base a alteraciones de la ecogenicidad renal, con un aumento relevante de la misma, ya que ningún perro presentaba alteraciones de la ecotextura, del tamaño ni de la arquitectura renal. Además, tampoco observamos lesiones focales en estos órganos. Este aumento de la ecogenicidad renal también fue el único hallazgo ecográfico en los riñones de los perros con babesiosis en los estudios llevados a cabo por Máthé *et al.* (2006a, 2006b).

La implicación renal en la babesiosis canina es un hecho que está ampliamente descrito en la bibliografía (Jacobson y Clark, 1994; Lobetti *et al.*, 1996; Lobetti y Jacobson, 2001; Boozer y Macintire, 2003; Jacobson, 2006; Máthé *et al.*, 2006a; Máthé *et al.*, 2006b; Lobetti, 2007b). La hiperecogenicidad renal la podemos encontrar en perros con nefritis glomerular e intersticial (Walter *et al.*, 1987; Adams *et al.*, 1991), lo que puede tener relación con la congestión de los capilares interlobulares y la degeneración del epitelio tubular causada por la hemoglobinuria presente en la enfermedad y, en otros casos, a causa de una glomerulonefritis inducida por inmunocomplejos (Boozer y Macintire, 2003). Aunque algunos autores afirman que la hemoglobina no es nefrotóxica (Gerritsen y Van der Zwan, 1992; Lobetti *et al.*, 1996; Jacobson, 2006), y que la necrosis tubular puede ser atribuida al efecto de sustancias liberadas en la lisis de los eritrocitos, a la deshidratación o a la acidosis (Gerritsen y Van der Zwan, 1992).

En lo que se refiere al estudio hemodinámico renal en los perros enfermos de babesiosis, los valores medios, tanto de los índices de resistencia como de los índices de pulsatilidad, estaban levemente incrementados (tabla 19) con respecto a los considerados como fisiológicos por los distintos

autores (Nyland *et al.*, 1993; Morrow *et al.*, 1996; Novellas *et al.*, 2007), si bien, no alcanzan los límites establecidos por éstos para determinar los valores patológicos de la resistencia vascular renal. En este estudio no hemos encontrado diferencias significativas entre los índices de resistencia y de pulsatilidad del riñón izquierdo y del derecho, no obstante, es importante resaltar el hecho de que sí hemos encontrado diferencias significativas entre los animales del grupo control y los animales con babesiosis.

Este aumento del valor de los índices de resistencia y de pulsatilidad renales que hemos obtenido contrastan con los descritos por Vatner *et al.* (1972), pues en su estudio realizado con perros con anemia crónica grave encontraron un descenso de la resistencia vascular renal. Sin embargo, nuestros resultados siguen un patrón similar al encontrado por Koma *et al.* (2005) en Sudáfrica, ya que describieron un incremento de estos índices en la arteria interlobar renal en perros con babesiosis no complicada. Según Koma *et al.* (2005) la aparente contradicción entre los resultados de estos estudios puede deberse a diferencias en los grados de anemia o al método de medición y lo atribuye a un mecanismo poco esclarecido de autorregulación renal para mantener un flujo sanguíneo constante, asociado a la vasoconstricción e incremento de la resistencia vascular renal. Otro hallazgo importante que se desprende del estudio llevado a cabo por Koma *et al.* (2005) fue la diferencia existente entre perros no infectados por *Babesia* con distintos grados de anemia y perros con babesiosis no complicada, ya que, en lugar de mostrar un cambio de patrón hemodinámico similar, mostraban diferencias significativas en cuanto al valor de los índices de resistencia, siendo éstos mucho más elevados en el caso de los animales con babesiosis. Esta elevación de los índices de resistencia no puede ser explicada únicamente en base al nivel del hematocrito, por lo que Koma *et al.* (2005) lo atribuye a la presencia de factores adicionales peculiares de la enfermedad. Este hallazgo corrobora la existencia del daño microvascular renal en perros con babesiosis no complicada o de fallo renal agudo en aquellos con babesiosis complicada (Lobetti y Jacobson, 2001; Welzl *et al.*, 2001).

Es importante destacar el estudio realizado por Morrow *et al.* (1996), en el que demostró que no existe una asociación entre ninguno de los hallazgos ecográficos, como la hiperecogenicidad y la heterogeneidad cortical o la presencia de mineralizaciones o cálculos renales, y los valores de los índices de resistencia. Este hallazgo confirma la importancia de estos índices a la hora de obtener información alternativa cuando no se han encontrado lesiones en la evaluación ecográfica en modo B.

6.2. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN

Como hemos explicado con anterioridad, dividimos a los animales estudiados en tres grupos: con babesiosis complicada, con babesiosis no complicada grave y con babesiosis no complicada leve, basándonos en la clasificación propuesta por Jacobson y Clark (1994), que adapta los criterios establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la malaria.

6.2.1. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS ESTUDIADAS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN

En este estudio hemos encontrado que los perros que padecen babesiosis no complicada grave son significativamente más jóvenes que los pacientes que pertenecen a los otros dos grupos, presentando una media de edad de $1,66 \pm 2,24$ años (tablas 20-22 y gráfica 9). Estos resultados coinciden con los de un trabajo realizado por Mathé *et al.* (2006a), en el cual las anemias más graves también aparecían en los perros más jóvenes.

El grupo que presentó la media de edad más elevada fue el de los animales con babesiosis complicada ($5,69 \pm 3,90$ años). Este hecho también coincide con los resultados obtenidos en el estudio realizado en Hungría por Mathé *et al.* (2006a), ya que encontraron una relación significativa entre el grado de complicación y la edad, siendo los animales más viejos los que presentaron un mayor número de complicaciones (Mathé *et al.*, 2006a). Esta diferencia puede atribuirse a que son estos animales más viejos los más proclives a sufrir algún tipo de fallo orgánico que ocasione la complicación de la babesiosis (Taboada y Merchant, 1991; Jacobson y Clark, 1994; Lobetti, 1998).

En lo referente al peso de los animales, al igual que en el estudio realizado por Jacobson *et al.* (2000), no hemos hallado diferencias significativas entre ninguno de los grupos, por lo que podemos afirmar que el tamaño de los animales no condiciona el grado de complicación de la babesiosis. Ninguna de las razas de nuestro estudio mostró predisposición a la hora de padecer alguna de las formas de la enfermedad, discrepando con los resultados del estudio llevado a cabo por Mathé *et al.* (2006a) en el que una raza, el Rottweiler, mostró más susceptibilidad que otras a padecer la forma complicada de la enfermedad.

En el caso de la temperatura corporal hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con babesiosis complicada y no complicada leve (tablas 20-22 y gráfica 11). Estos resultados difieren de los descritos en el estudio llevado a cabo en Sudáfrica por

Jacobson *et al.* (2000) en el cual, aunque también son los animales con babesiosis no complicada leve los que presentan unos valores más elevados de la temperatura corporal, no hallaron diferencias significativas entre los grupos. Esta falta de significación en el estudio llevado a cabo por Jacobson *et al.* (2000) puede deberse a que el tamaño de la muestra (30 perros), es muy inferior al nuestro.

La fiebre en los animales infectados por *Babesia* aumenta de manera proporcional a la carga parasitaria en los primeros días de la infección (Navarrete y Nieto, 1999; Boozer y Macintire, 2003; Schetters *et al.*, 2009), alcanzando su valor máximo a los dos o tres días de la detección del hemoparásito en la sangre periférica (Navarrete y Nieto, 1999; Boozer y Macintire, 2003). Por lo tanto, posiblemente la razón por la cual los pacientes con babesiosis no complicada leve son los que presentan unos valores más elevados de la temperatura corporal se deba a que son estos perros los que se han diagnosticado con una mayor premura, antes del empeoramiento del cuadro clínico, coincidiendo con el pico de fiebre característico de la babesiosis. Además, en el caso de los animales con babesiosis complicada se sabe que los animales más viejos o debilitados también tienen una mayor probabilidad de presentar hipotermia debido a que la generación de calor y el control de la temperatura pueden estar alterados (Taylor, 2007).

Respecto a la presión arterial este parámetro ha mostrado unos valores medios muy similares en los tres grupos (tablas 20-22 y gráfica 12), sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos, coincidiendo estos resultados con el estudio realizado con anterioridad por nuestro grupo de investigación (Fraga *et al.*, 2007a). Sin embargo, estos resultados difieren de los descritos por Jacobson *et al.* (2000) en Sudáfrica con perros infectados por *Babesia canis rossi*, ya que en su trabajo encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos. Esto puede deberse a que la subespecie de *Babesia* presente en nuestra zona, posea una patogenicidad menor a la que se encuentra en el país africano (Taboada y Merchant, 1991; Lobetti, 1998), por lo que no llega a provocar una hipotensión tan marcada como la descrita por Jacobson.

Al igual que sucedía en los resultados generales, los valores medios de la presión arterial sistólica de los tres grupos se encuentran por debajo del establecido como normal para la especie (Chalifaux *et al.*, 1985; Remillard *et al.*, 1991; Stepien *et al.*, 1999), pero no alcanzan valores que puedan ser considerados de hipotensión (Erhardt *et al.*, 2003; Waddell, 2007). No obstante, si tenemos en cuenta el valor de corte de 100 mmHg establecido por Erhardt *et al.* (2003) para la hipotensión (tabla 6), obtenemos que un 38,5% de los perros con babesiosis complicada padecían hipotensión, así como un 31,8% de los perros con babesiosis no complicada grave y un 16,1% con babesiosis no complicada leve.

Por otro lado, únicamente 2 de los pacientes que pertenecían al grupo con babesiosis complicada debido a la presencia de un fallo renal padecían hipertensión, en función de los límites establecidos por Stepien (2000) (tabla 4). Por lo tanto, a la vista de estos valores, podemos afirmar que

la posibilidad de una hipotensión, aunque con menos frecuencia que la producida por *Babesia canis rossi*, debe de ser tomada en cuenta, fundamentalmente en aquellos pacientes con babesiosis complicada y no complicada grave. Si bien, no son necesarios tratamientos especiales, ya que la presión arterial regresó a sus valores normales simplemente con el tratamiento babesicida.

El reflejo doloroso a la palpación abdominal fue un hallazgo muy frecuente en los grupos de pacientes con babesiosis complicada y no complicada grave con un 80,8% y 81,8% respectivamente (gráficas 6 y 7), mientras que fue sensiblemente inferior en el grupo de babesiosis no complicada leve, con un 53,6% (gráfica 8). Por lo tanto, el dolor abdominal, aún siendo un hallazgo común en todos los grupos, fue más frecuente en pacientes con babesiosis complicada y no complicada grave. Esto puede deberse a la existencia de un mayor grado de esplenomegalia en estos dos grupos, lo cual produce una mayor distensión de la cápsula esplénica, y que a su vez puede estar asociado con el mayor grado de anemia que presentan estos animales en comparación con los pacientes con babesiosis no complicada leve.

6.2.2. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES HEMATOLÓGICAS ESTUDIADAS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN

6.2.2.1. SERIE ROJA

Si valoramos los resultados obtenidos en la serie roja para cada uno de los grupos podemos observar como la anemia fue un hallazgo constante en todos ellos (tablas 23-25), con unos valores medios del hematocrito, recuento total de células rojas y concentración de hemoglobina por debajo de los considerados como normales en el perro (tabla 9). No obstante, el grado de anemia fue muy distinto en los tres grupos (gráficas 13-15), como destaca el hecho de que hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre cada uno de ellos. Esta elevada diferencia existente entre los perros con babesiosis no complicada grave y leve era un hallazgo esperable ya que estos grupos se habían establecido en función del hematocrito de los pacientes. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Jacobson *et al.* (2000), quienes también encontraron diferencias significativas entre los tres grupos.

La gravedad de la anemia es muy variable en las infecciones provocadas por *Babesia* (Boozer y Macintire, 2003), pero es importante destacar el elevado porcentaje de perros con anemia grave que hemos encontrado en nuestro estudio, presente en los 22 animales pertenecientes al grupo de babesiosis no complicada grave y en 10 de los pacientes con babesiosis complicada, representando un 30,8% del total de los perros examinados. Estos resultados contrastan con otros estudios llevados a cabo en Italia (Furlanello *et al.*, 2005; Solano-Gallego *et al.*, 2008) y en Hungría (Mathé *et al.*, 2006a),

donde estos porcentajes fueron del 5,9%, 3,7% y 6% respectivamente. Esta diferencia podría deberse a que los perros de estos grupos acuden a nuestra consulta en fases más avanzadas de la enfermedad, ya que si se diagnostica y trata la enfermedad en los primeros días de la infección se puede prevenir la hemólisis intravascular masiva y las complicaciones potenciales, evitando descensos tan bruscos del valor hematocrito y mejorando, de esta manera, el pronóstico de la enfermedad en estos pacientes (Mathé *et al.*, 2006a).

A la hora de valorar el tipo de anemia que aparece en cada grupo en función de los índices eritrocitarios y de los recuentos de reticulocitos, podemos observar la variabilidad existente entre ellos (tablas 23-25 y gráficas 16-22). Así, en función de estos valores, es posible afirmar que en el caso de los animales con babesiosis complicada y no complicada leve nos encontramos ante una anemia normocítica, normocrómica y no regenerativa, mientras que en el grupo de los pacientes con babesiosis no complicada grave la anemia sigue siendo normocítica y normocrómica, pero parece presentar claros signos de regeneración, con elevaciones importantes del porcentaje de reticulocitos, del recuento total de reticulocitos y del ancho de distribución eritrocitaria; apareciendo diferencias estadísticamente significativas con respecto a los otros dos grupos.

No obstante, debemos tener en cuenta que el recuento total de reticulocitos es el único índice de reticulopoyesis eficaz, ya que el porcentaje de reticulocitos observado puede dar una información errónea del grado de regeneración. Esto es debido a que, en primer lugar, en los animales anémicos se liberan de la médula reticulocitos que se mezclan en la sangre con pocos eritrocitos maduros y, a medida que el número de eritrocitos desciende, la relación de eritrocitos y células maduras se incrementa, incluso si el número absoluto de reticulocitos permanece estático; en segundo lugar, a medida que se incrementa la gravedad de la anemia, los reticulocitos pasan menos tiempo en la reserva de maduración medular y más tiempo en la circulación antes de convertirse en eritrocitos maduros (Pastor, 2009). No obstante, para el uso adecuado del recuento total de reticulocitos, se debe obtener el valor absoluto de reticulocitos corregido, en función de la masa eritrocítica del enfermo y de los efectos de la eritropoyetina (EPO) sobre la liberación medular de reticulocitos (Hillman y Finch, 1985). Así, si observamos el valor absoluto de reticulocitos corregido, podemos ver como en los tres casos es muy inferior a 105.000 reticulocitos/ml, límite establecido por Feldman (2007) a la hora de considerar una anemia regenerativa, por lo que debemos afirmar que, en los tres grupos, la anemia es no regenerativa. Estos resultados coinciden con el estudio realizado por Furlanello *et al.* 2005, en el que encontraron que la regeneración no es proporcional al grado de anemia de los pacientes, al contrario de lo que se afirmaba en anteriores estudios (Boozer y Macintire, 2003).

6.2.2.2. SERIE BLANCA

Respecto al recuento total de glóbulos blancos, hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con babesiosis no complicada leve y los otros dos grupos, pero no existen diferencias significativas entre los animales con babesiosis complicada y los pacientes con babesiosis no complicada grave (tablas 23-25). En estos dos grupos, los valores medios se encuentran dentro de los parámetros considerados como normales en el perro (tabla 9) pero, en el caso de los pacientes con babesiosis no complicada leve, la mayoría de los animales presentaban recuentos totales muy bajos de leucocitos como se puede observar en la gráfica 23 y su valor medio reflejó leucopenia. En este caso, nuestros resultados también coinciden con Jacobson *et al.* (2000), ya que en este estudio llevado a cabo en Sudáfrica también son los pacientes con babesiosis no complicada leve los que presentan un valor medio de glóbulos blancos compatible con leucopenia y significativamente inferior al de los otros dos grupos.

Así la leucopenia apareció en el 46,1% de los pacientes con babesiosis complicada, en el 31,8% de los pacientes con babesiosis no complicada grave y en el 62,5% de los perros con babesiosis no complicada leve. Una explicación a este hecho la podemos encontrar en el estudio experimental con 10 perros de raza Beagle llevado a cabo por Schetters *et al.* (2009) en el que demostró que el número total de glóbulos blancos decrece bruscamente los primeros días tras la infección por *Babesia canis*, alcanzando su mínimo a los 3-5 días. Posteriormente, sus valores se elevan, llegando a recuperar valores normales sobre el día 10-11. Además, esta disminución era dependiente de la dosis infecciosa que se le aplicaba a cada animal. Por lo tanto, serán estos animales con babesiosis no complicada leve los que muestren un mayor grado de leucopenia, pues se diagnostican de forma más precoz durante los primeros días de la infección, mientras que en los otros dos grupos la mayoría de los animales ya habrán superado la fase leucopénica y recuperado valores normales, o incluso aumentados, de leucocitos. No obstante, la leucocitosis fue un hallazgo muy poco frecuente y sólo apareció en un 15,38% de los pacientes con babesiosis complicada, un 9,09% de los perros con babesiosis no complicada grave y en un 1,79% de los animales con babesiosis no complicada leve.

Hemos encontrado diferencias significativas entre los pacientes con babesiosis complicada y no complicada leve para los recuentos de monocitos, neutrófilos, eosinófilos y basófilos; mientras que entre los perros con babesiosis no complicada grave y no complicada leve estas diferencias significativas aparecieron en los recuentos de linfocitos, monocitos y basófilos. En general, los resultados fueron muy variables para toda la serie blanca, pero hay que destacar que los valores medios más bajos siempre aparecieron en el grupo de animales con babesiosis no complicada leve (tablas 23-25), aunque en todos los casos se encuentran dentro de los valores de referencia (tabla 9). Esta gran variabilidad en los valores de la serie blanca es frecuente en los distintos estudios llevados a

cabo con perros infectados por *Babesia canis*, no obstante, el mecanismo por el cual se produce, su influencia a la hora de valorar la gravedad de la enfermedad o de emitir un pronóstico, no han sido todavía dilucidados.

6.2.2.3. PLAQUETAS

Respecto a las plaquetas, decir que el resultado es el esperado, ya que el hallazgo constante de trombocitopenia (tablas 23-25 y gráfica 29) es un hecho en los animales infectados por *Babesia* (Pagès y Trouillet, 1984; Abdullahi *et al.*, 1990; Irwin y Hutchinson, 1991; Taboada, 1997; Duh *et al.*, 2004; Baric Rafaj *et al.*, 2005; Furlanello *et al.*, 2005; Niwetpathomwat *et al.*, 2006; Taboada y Lobetti, 2006; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007; Zygnier *et al.*, 2007; Solano-Gallego *et al.*, 2008; Adaszek *et al.*, 2009). No hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos, sin embargo, el recuento de plaquetas más bajo aparece en el caso de los pacientes con babesiosis no complicada leve.

La justificación de estos valores, al igual que en el caso de los glóbulos blancos, puede estar en el momento en el que se realizó el diagnóstico en los pacientes. Así, en el estudio llevado a cabo por Schetters *et al.* (2009) encontraron que el recuento total de plaquetas descendía bruscamente tras la infección y que, también en este caso, la gravedad del descenso estaba relacionada con la dosis infectiva. Estos animales mostraban las trombocitopenias más graves a los 5-7 días de la infección.

Es importante señalar que los únicos tres perros del estudio que no presentan trombocitopenia en el momento del diagnóstico pertenecían al grupo de pacientes con babesiosis complicada. Según la clasificación propuesta por Furlanello *et al.* (2005), en nuestro trabajo los perros con babesiosis no complicada leve tenían un valor medio de trombocitopenia moderada, mientras que en los otros dos grupos el valor medio correspondía a una trombocitopenia leve. Sin embargo, presentaban trombocitopenia grave un 26,9% de los pacientes con babesiosis complicada, un 27,3% de los perros con babesiosis no complicada grave y un 26,8% de los pacientes con babesiosis no complicada leve. Como podemos ver, a pesar de que el valor medio fue inferior en el grupo de los pacientes con babesiosis no complicada leve, el porcentaje de casos con trombocitopenia grave fue muy similar en los tres grupos. Por lo tanto, podemos concluir que la trombocitopenia es un hallazgo prácticamente constante en los tres grupos de pacientes con babesiosis y que su gravedad no se correlaciona con el estado clínico ni con el pronóstico de los pacientes. Estos resultados difieren de los observados en el estudio realizado en Sudáfrica por Moore y Williams (1979) donde la gravedad de la enfermedad sí influía en el grado de la trombocitopenia, siendo ésta más acusada en los casos más graves de babesiosis.

En cuanto a los índices plaquetarios, tanto el MPV como el PDW se encuentran en los tres grupos por encima de su valor considerado como normal (tablas 23-25), lo que nos indica que en los tres grupos nos encontramos ante una trombocitopenia regenerativa, la cual, como ya hemos comentado, es característica de la babesiosis (Abdullahi *et al.*, 1990; Kettner, 2003; Baric Rafaj *et al.*, 2005; Furlanello *et al.*, 2005; Ruiz de Gopegui *et al.*, 2007; Fraga *et al.*, 2009). En el caso del MPV este incremento es muy poco notorio, sobre todo en los grupos de animales con babesiosis complicada y no complicada leve (gráfica 30). No obstante, aparecen diferencias significativas entre estos dos grupos y los pacientes con babesiosis no complicada grave. Estos resultados nos pueden indicar que el número de plaquetas gigantes en sangre periférica es significativamente superior en el grupo de los pacientes con babesiosis no complicada grave. Sin embargo, si tenemos en cuenta el estudio realizado por Bommer *et al.* (2008), en el que demostraron que el PDW es un indicador más sensible que el MPV a la hora de valorar este incremento del número de plaquetas gigantes, como en nuestro estudio el valor del PDW es muy parecido en los tres grupos (gráfica 31), podemos afirmar que la regeneración de las plaquetas sigue un patrón similar en todos ellos.

6.2.3. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES BIOQUÍMICAS ESTUDIADAS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN

6.2.3.1. CONCENTRACIONES DE FOSFATASA ALCALINA, ALANINA AMINOTRANSFERASA Y BILIRRUBINA TOTAL

Como podemos observar las concentraciones medias de fosfatasa alcalina, de alanina aminotransferasa y de bilirrubina total en el grupo de pacientes con babesiosis complicada están por encima del rango considerado normal para un perro adulto, mientras que, en el caso de los animales con babesiosis no complicada grave y leve, los valores medios están dentro del rango considerado como normal para esta especie (tablas 26-28 y gráficas 32-34). Como cabía esperar, hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con babesiosis complicada y no complicada tanto para los valores de la fosfatasa alcalina como de la alanina aminotransferasa, ya que los valores de estas enzimas han sido utilizados para la composición de estos grupos. No obstante, debemos resaltar que en el estudio llevado a cabo por Jacobson *et al.* (2000) en Sudáfrica, no encontraron diferencias significativas para estos parámetros, por lo que existe una mayor afección hepática en el grupo de los pacientes con babesiosis complicada de nuestro estudio. Así, mientras en nuestro trabajo 8 de los animales con babesiosis complicada presentaban ambas enzimas por encima del doble de su valor normal, representando un 30,8%, ninguno de los perros del estudio de Jacobson *et al.* (2000) alcanzaba estos niveles. Debemos señalar que el estudio de Jacobson *et al.* (2000) fue realizado con 30

perros, 10 de ellos con babesiosis complicada, un número muy inferior al nuestro, por lo que nuestros resultados son más representativos.

Aunque estas enzimas son muy sensibles para detectar la enfermedad hepatobiliar, su falta de especificidad dificulta la interpretación de las anomalías. En la babesiosis, no se conoce con exactitud si estas lesiones hepáticas pueden estar causadas por citoquinas inflamatorias, por un daño hipóxico, o bien, por una combinación de ambos. El daño hipóxico puede producir una inflamación hepatocelular difusa, por lo que en los casos de babesiosis graves, esta inflamación puede ser suficiente como para causar una hepatopatía transitoria (Taboada y Lobetti, 2006). Además, debemos tener en cuenta la función principal del hígado en el metabolismo y su elevado flujo sanguíneo, lo que le hace ser un órgano excepcionalmente sensible a las lesiones secundarias. Por tanto, hay algunas alteraciones clínicas en las que pueden estar elevadas las enzimas hepáticas, pero en las que no necesariamente tiene que existir una enfermedad hepatobiliar importante (Webster, 2007).

En lo que respecta a los valores de la bilirrubina total, únicamente hemos encontrado diferencias significativas entre los pacientes con babesiosis complicada y no complicada leve. Nueve de los pacientes con babesiosis complicada presentaron niveles elevados de bilirrubina (31,0%), 7 de los cuales presentaban ictericia, mientras que solamente uno de los perros con babesiosis no complicada leve (1,8%) mostró niveles superiores al límite de 0,9 mg/dl establecido como normal por nuestro laboratorio. Según la bibliografía, los niveles séricos de bilirrubina están muy elevados en perros afectados de babesiosis con anemia grave (Reyers *et al.*, 1998), lo que refleja una ictericia de origen prehepático, aunque también hay que tener en cuenta la posibilidad de un origen hepático, por lo que la implicación de este órgano en perros afectados de ictericia debe de tenerse en consideración (Jacobson, 2006; Taboada y Lobetti, 2006). Sin embargo, esta elevación no se observó en nuestros resultados ya que los valores medios de bilirrubina en el grupo de pacientes con babesiosis no complicada grave no estaban alterados, pues, únicamente 2 de los pacientes de este grupo (9,1%) mostraron una hiperbilirrubinemia moderada, sin superar los 1,2 mg/dl. Estos valores tampoco coinciden con los obtenidos en el estudio realizado por Jacobson *et al.* (2000), en el que los valores medios de bilirrubina sérica sí aparecían claramente aumentados, tanto en el grupo de pacientes con babesiosis complicada como no complicada grave.

6.2.3.2. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO SANGUÍNEO Y CREATININA

Al valorar los resultados obtenidos para la función renal (tablas 26-28 y gráficas 35 y 36) podemos afirmar que los animales con babesiosis complicada presentan fallo renal, o lo que es más correcto, “implicación renal”, dada la poca frecuencia de presentación de un fallo renal verdadero en la

babesiosis canina (Lobetti y Jacobson, 2001). Existen diferencias estadísticamente significativas tanto para la concentración de BUN como para la de creatinina entre los pacientes con babesiosis complicada y los otros dos grupos estudiados. Al contrario de lo que sucede con las enzimas hepáticas, estos resultados son muy similares a los descritos por Jacobson *et al.* (2000) quienes también hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, con unos resultados muy similares a los nuestros, donde los perros con babesiosis complicada presentaban para ambos parámetros valores superiores a los de referencia. En nuestro estudio 11 de los pacientes con babesiosis complicada mostraron valores de creatinina sérica por encima de su valor normal, lo que representa un 42,3%, porcentaje muy superior al obtenido en el estudio llevado a cabo por Jacobson *et al.* (2000), que fue de un 21,4%. Además, todos los pacientes en los que la creatinina sérica estaba elevada, mostraron un aumento simultáneo del nitrógeno ureico sanguíneo. Esta elevación de la creatinina acompañada de un incremento del BUN en los pacientes con babesiosis complicada puede ser atribuida a diferentes factores. Así, en los casos en los que las elevaciones son leves éstas pueden deberse a la deshidratación causada por la anorexia y la hipertermia (Boozer y Macintire, 2003; Mathé *et al.*, 2006b). Sin embargo, en un porcentaje importante de casos, existe una clara afectación renal con niveles de BUN y creatinina incrementados. A este respecto, en nuestro estudio 6 de los perros con babesiosis complicada (23,08%) tenían unos valores de creatinina y BUN muy por encima de su límite superior. Esto puede atribuirse a causas diferentes, como son el descenso del flujo sanguíneo renal como consecuencia del descenso de la presión arterial y/o de la hipovolemia que sufren estos pacientes (Lobetti y Jacobson, 2001; DiBartola, 2007), a la congestión de los capilares interlobulares y a la degeneración del epitelio tubular causada por la hemoglobinuria presente en la enfermedad, o bien, a una glomerulonefritis inducida por inmunocomplejos (Boozer y Macintire, 2003).

Por otro lado hay que tener en cuenta que la elevación del BUN es desproporcionada en comparación con la de la creatinina y que su valor medio aparece incrementado en todos los grupos. Esta elevación del nitrógeno ureico sanguíneo es un hallazgo prácticamente constante en todos los estudios clínicos llevados a cabo con perros con babesiosis, incluyendo los de Jacobson *et al.* (2000), de Scally *et al.* (2004), Furlanello *et al.* (2005), Koma *et al.* (2005); de Scally *et al.* (2006) y Ruíz de Gopegui *et al.* (2007). No obstante, debemos asumir que un incremento aislado del BUN sérico es un hecho irrelevante para valorar la insuficiencia renal en la babesiosis (Lobetti y Jacobson, 2001; de Scally *et al.*, 2004, de Scally *et al.*, 2006; Lobetti, 2007b). Las elevaciones desproporcionadas de este parámetro podemos atribuir las al catabolismo de los eritrocitos lisados, que ocasionan un incremento de la carga proteica en el hígado y, consecuentemente, un aumento de la producción de nitrógeno ureico sanguíneo. También pueden estar asociados a una elevación generalizada del catabolismo proteico como resultado de la enfermedad febril e inflamatoria. Aunque son mucho menos frecuentes, y prácticamente descartadas en nuestro estudio, otras posibles causas son las hemorragias gastrointestinales y la ingestión de alimentos ricos en proteínas (Lobetti y Jacobson, 2001).

6.2.3.3. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y PROTEÍNAS TOTALES

Los valores medios de las concentraciones de glucosa y de proteínas totales obtenidos en los tres grupos estudiados (tablas 26-28 y gráficas 37 y 38) se encuentran dentro del rango de referencia establecido como normal por nuestro laboratorio (tabla 11). Sin embargo, la concentración de proteínas totales aparece significativamente más elevada en el caso de los pacientes con babesiosis complicada.

Respecto a los niveles de glucosa, el único perro del estudio que presentó hipoglucemia estaba dentro del grupo con babesiosis complicada, representando un 3,85%, muy por debajo del 25% descrito por Keller *et al.* (2004). Como ya hemos comentado, a pesar de que nuestros resultados no lo reflejan, la hipoglucemia es un hallazgo relativamente común en perros infectados por *Babesia* en Sudáfrica (Button, 1979; Leisewitz *et al.*, 2001; Keller *et al.*, 2004; Nel *et al.*, 2004; Jacobson y Lobetti, 2005). Entre los factores de riesgo asociados a la hipoglucemia Keller *et al.* (2004) han señalado el colapso, la anemia grave, la ictericia, los vómitos y el tener una edad inferior a los 6 meses. Según estos investigadores la hipoglucemia debe ser convenientemente evaluada y tratada si fuese necesario, en todos los perros con babesiosis, especialmente en aquellos con fallo hepático o con babesiosis cerebral. En el único caso descrito en nuestro estudio, debemos señalar que el animal tenía una glucemia de 57 mg/dl, siendo el rango normal para un perro adulto de 77-125 mg/dl, y presentaba ictericia y anemia grave en el momento de su diagnóstico, además de las enzimas hepáticas aumentadas. Por lo tanto, ateniéndonos a nuestros resultados, podemos afirmar que, al contrario de lo que ocurre en Sudáfrica, la hipoglucemia únicamente aparece de manera excepcional en los perros afectados de babesiosis en nuestra zona de trabajo, incluso en aquellos perros con babesiosis complicada.

Sin embargo, la hiperglucemia fue un hallazgo relativamente común en nuestro estudio, sobre todo en aquellos perros con babesiosis complicada, apareciendo en el 30,8% de éstos, mientras que en los casos de babesiosis no complicada grave y leve apareció en un 9,1% y en un 5,4% respectivamente. Nuestros resultados no coinciden con los descritos por Keller *et al.* (2004), que señalaban que la hiperglucemia no es un buen indicador de la gravedad de la enfermedad. Basándonos en nuestros resultados creemos que la concentración de glucosa sérica debe ser valorada en todos aquellos perros en los que se sospeche de babesiosis, dada su gran utilidad a la hora de estimar un pronóstico para cada paciente, lo que se discutirá en los apartados dedicados a la evolución y supervivencia de los animales.

Las proteínas totales, como ya hemos comentado, están significativamente aumentadas en el grupo de pacientes con babesiosis complicada. Así, en este grupo, un 30,8% de los perros presentaban hiperproteinemia, mientras que este parámetro no estaba elevado en ninguno de los pacientes con babesiosis no complicada grave y únicamente en un 5,4% de los pacientes con babesiosis no

complicada leve. En lo que se refiere a la hipoproteinemia, ésta afectó a un 15,4% de los animales con babesiosis complicada, a un 27,3% de los perros con babesiosis no complicada grave y a un 3,6% de los pacientes con babesiosis no complicada leve. Por lo tanto, las elevadas diferencias individuales en nuestro estudio, en lo que a las proteínas plasmáticas se refiere, indican que éstas pueden ser muy variables en función de la respuesta inmune de cada paciente frente al parásito, y que las fracciones de albúmina y globulinas deben establecerse para poder dar unos resultados más concluyentes.

Nuestros resultados no concuerdan con los del estudio llevado a cabo por Lobetti *et al.* (2000), en perros infectados por *Babesia canis rossi*, en el que ningún perro presentaba hiperproteinemia, mientras que la hipoproteinemia era un hallazgo constante tanto en los pacientes con babesiosis complicada como no complicada grave y leve. Estos resultados indican que también existe una elevada variabilidad para este parámetro en función de la especie de *Babesia* implicada.

6.2.4. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES ECOGRÁFICAS ESTUDIADAS EN FUNCIÓN DEL GRADO DE COMPLICACIÓN

Como podemos observar en la tabla 32, tanto en el grupo de los animales con babesiosis complicada como en los grupos de babesiosis no complicada grave y leve predominaban las lesiones esplénicas, seguidas de las lesiones renales, mientras que las hepáticas fueron las menos frecuentes. No obstante, hay que señalar que la prevalencia de cada una de las lesiones ha sido muy superior en el grupo de los pacientes con babesiosis complicada.

6.2.4.1. LESIONES ESPLÉNICAS

En este trabajo 17 de los 18 pacientes con babesiosis complicada a los que se les realizó la ecografía abdominal mostraban lesiones esplénicas (94,4%) (tablas 29 y 32). De estos 17 pacientes, 16 de ellos presentaban un aumento difuso del tamaño del bazo, con una ecotextura gruesa y un parénquima marcadamente hipoeecogénico; mientras que en uno de ellos únicamente apreciamos alteración de la ecotextura.

En el grupo de los pacientes con babesiosis no complicada grave, 11 de los 14 perros en los que se llevó a cabo la ecografía abdominal mostraban lesiones, representando un 78,6% (tablas 30 y 32). En todos estos casos se observó esplenomegalia difusa, con alteración de la ecotextura y disminución de la ecogenicidad.

Por último, 35 de los 40 perros con babesiosis no complicada leve a los que se les realizó la ecografía tenían lesiones esplénicas (87,5%) (tablas 31 y 32). En todos ellos el bazo presentaba una ecotextura más gruesa de lo normal. A esta alteración de la ecotextura se sumaba un aumento del

tamaño esplénico y la existencia de un parénquima hipoecogénico en 27 de los pacientes, mientras que en 3 de ellos únicamente se acompañaba de esplenomegalia, mostrando una ecogenicidad normal.

Por lo tanto, las alteraciones esplénicas fueron un hallazgo muy representativo en los tres grupos estudiados. No hemos encontrado en la bibliografía ningún estudio clínico que valore la apariencia del bazo en los perros con babesiosis, no obstante, la esplenomegalia sí es un hallazgo frecuente en la exploración física de estos perros (Breitschwerdt, 1984; Pagés *et al.*, 1990; Irwin y Hutchinson, 1991; Máthé *et al.*, 2006a; Máthé *et al.*, 2006b; Taboada y Lobetti, 2006). De esta manera, dada la elevada frecuencia con la que el bazo se ve afectado en todos los grupos estudiados, el hecho de encontrar estas lesiones puede orientarnos hacia el diagnóstico presuntivo de esta enfermedad, al ser uno de los hallazgos más constantes en la babesiosis canina, sin embargo, no será de utilidad a la hora de estimar la gravedad del proceso o de emitir un pronóstico del mismo.

6.2.4.2. LESIONES HEPÁTICAS

En referencia a la exploración ecográfica del hígado, las lesiones hepáticas han sido las menos prevalentes en todos los grupos. En el caso de los perros con babesiosis complicada estas lesiones aparecieron en 8 pacientes (44,4%), y consistían en una disminución de la ecogenicidad hepática, la cual iba acompañada de un aumento del tamaño del órgano en 5 de los perros (tablas 29 y 32). En los grupos de pacientes con babesiosis no complicada grave y leve las lesiones hepáticas fueron observadas en 3 (28,6%) y 8 (22,5%) de los animales respectivamente, y en todos los casos el hígado estaba aumentado de tamaño y su ecogenicidad disminuida.

Dentro del grupo de los animales con babesiosis complicada, de los 11 perros que presentaban fallo hepático según los criterios de clasificación aplicados, únicamente 4 mostraron lesiones hepáticas mediante ecografía, que consistían en un aumento del tamaño hepático y disminución de la ecogenicidad. Hay que destacar que estos 4 animales tenían las enzimas hepáticas, fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa y bilirrubina total, considerablemente elevadas, mientras que de los 7 restantes sólo uno de ellos presentaba estas enzimas alteradas y los otros 6 pacientes habían sido incluidos en este grupo por la ictericia que mostraban en el momento del diagnóstico, por lo que en estos casos la ictericia pudiera tener un origen prehepático debido a la anemia hemolítica (Mathé *et al.*, 2006a). Por otro lado, debemos resaltar la existencia de lesiones hepáticas, diagnosticadas mediante ecografía, en 4 de los perros incluidos en este grupo por otras complicaciones que no eran el fallo hepático, concretamente dos de ellos tenían fallo renal y los otros dos babesiosis cerebral. En esta ocasión las lesiones consistían en una disminución de la ecogenicidad del parénquima hepático, aunque en uno de los pacientes con babesiosis cerebral también detectamos hepatomegalia.

Como ya hemos comentado, en los grupos con babesiosis no complicada, en los cuales los animales no tenían alteraciones orgánicas detectables mediante la exploración física o en los análisis laboratoriales, también encontramos lesiones hepáticas en un 28,6% de los pacientes con babesiosis no complicada grave y en un 22,5% de los perros con babesiosis no complicada leve.

En función de los resultados de nuestro estudio, podemos afirmar que aquellos animales que presentaban elevaciones considerables de los parámetros bioquímicos alanina aminotransferasa y fosfatasa alcalina poseían una elevada probabilidad (80%) de tener lesiones hepáticas, pero por otro lado, aunque estos parámetros tuvieran valores normales no se podía descartar la presencia de estas lesiones. Ante estos hechos debemos tener en cuenta que una ecografía normal no descarta una posible enfermedad hepática, mientras que hallazgos anormales pueden no ser diagnósticos (Lamb, 1991; Tiemessen, 1992; Partington y Biller, 1995; Nyland *et al.*, 2002c; Feeney *et al.*, 2008). Por tanto, en caso de existir lesiones, es recomendable el estudio de muestras citológicas o histológicas, obtenidas por aspiración con aguja fina o mediante biopsia ecoguiada del hígado respectivamente (Lamb, 1991; Loriot *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2004). Así, en el estudio experimental llevado a cabo por Mathé *et al.* (2006b) se realizó una biopsia hepática en un Beagle esplenectomizado infectado por *Babesia canis*, en el que las enzimas hepáticas estaban claramente aumentadas y que presentaba hepatomegalia y una alteración difusa de la ecotextura del órgano. La biopsia reveló la existencia de una hepatitis aguda difusa acompañada de necrosis focal de células hepáticas, infiltrado simple de grasa patológica centrolobular y estasis biliar.

6.2.4.3. LESIONES RENALES

La prevalencia de las lesiones renales ha sido mucho mayor en el grupo de pacientes con babesiosis complicada, con un 78%, frente al 50% del grupo con babesiosis no complicada grave o al 32,5% del de pacientes con babesiosis no complicada leve (tabla 32).

En 11 pacientes del grupo de perros con babesiosis complicada se diagnosticó fallo renal teniendo en cuenta el valor de la creatinina sérica que presentaban en el momento de su diagnóstico. Hemos realizado la ecografía abdominal en 8 de ellos, y en todos los casos detectamos un incremento de la ecogenicidad renal. No obstante, este hallazgo ecográfico también apareció en 6 de los pacientes de este grupo que no presentaban fallo renal, en 7 de los perros con babesiosis no complicada grave y en 13 con la forma no complicada leve de la enfermedad (tablas 29-31), en los cuales los valores de creatinina séricos estaban dentro de la normalidad. Estos resultados coinciden con un estudio previo llevado a cabo por nuestro grupo de investigación con perros enfermos de babesiosis, en el cuál se observó aumento de ecogenicidad renal a pesar de que los análisis bioquímicos habían descartado la existencia de un fallo renal (Fraga *et al.*, 2008c).

Por lo tanto, en función de nuestros resultados, podemos afirmar que el hecho de observar en los análisis bioquímicos de estos perros un incremento del BUN junto con un aumento de la creatinina sérica por encima de sus valores normales, sería indicativo de que estos animales presentan una lesión renal diagnosticable mediante ecografía. Estos resultados contrastan con los estudios llevados a cabo en Sudáfrica por de Scally *et al.* (2004 y 2006) y Lobetti (2007b), que ponen en duda la utilidad de estos parámetros bioquímicos para determinar la presencia de una posible enfermedad renal, debido a que el nitrógeno ureico sérico puede presentar falsos incrementos por el aumento de la carga proteica en el hígado, atribuible al catabolismo de los eritrocitos lisados o a la elevación generalizada del catabolismo proteico; a errores laboratoriales causados por la interferencia de los productos de la hemólisis que pueden modificar los valores de la creatinina sérica; o bien, a que la azotemia tenga un origen prerrenal.

En lo que respecta al estudio hemodinámico, encontramos un incremento tanto en los índices de resistencia como en los índices de pulsatilidad renales en los tres grupos establecidos (tablas 33-35) en relación a los valores considerados como normales en el perro (Nyland *et al.*, 1993; Morrow *et al.*, 1996; Novellas *et al.*, 2007) y con diferencias estadísticamente significativas respecto a nuestro grupo control. Como hemos comentado, estos resultados concuerdan con los del estudio llevado a cabo por Koma *et al.* (2005), aunque en su trabajo únicamente incluían perros con babesiosis no complicada causada por *Babesia canis rossi*, y corroboran la existencia de daño microvascular renal en perros con babesiosis no complicada o de fallo renal agudo en aquellos con babesiosis complicada tal como han descrito Lobetti y Jacobson (2001) y Welzl *et al.* (2001).

Es importante destacar el hecho de que los valores más elevados de estos índices aparecieron en los perros con babesiosis no complicada grave (tabla 34), lo que se puede atribuir a la grave anemia presente en estos animales y a la hipoxia renal secundaria que, a su vez, origina una constricción de los vasos sanguíneos debida sobre todo a la secreción de endotelinas por las células endoteliales. Esto conlleva un incremento tanto de los índices de resistencia como de pulsatilidad renales (Morrow *et al.*, 1996).

En el caso de los perros con babesiosis complicada puede tener un mayor interés valorar estos índices en función de la complicación subyacente. Así, de los 8 pacientes a los que se les realizó la ecografía abdominal y que presentaban fallo renal considerando los resultados laboratoriales, 6 presentaban los índices incrementados, con valores medios de 0,708 para los de resistencia y de 1,59 para los de pulsatilidad, aunque este segundo índice sólo se obtuvo en 3 de los pacientes. Morrow *et al.* (1996) encontraron una relación significativa entre los índices de resistencia y el fallo renal agudo, asegurando que el uso de los índices de resistencia renales en perros con fallo renal agudo puede ser de gran importancia, incluso en aquellos casos en los que los riñones son aparentemente normales en la imagen ecográfica. Así, debemos destacar que en trabajos llevados a cabo en personas con fallo renal

agudo, los resultados del estudio Doppler renal son anormales en muchos más casos que lo es la imagen ecográfica de los riñones (Platt *et al.*, 1991b). Además, es importante la utilización de estos índices para la detección precoz de la enfermedad renal, ya que mediante métodos convencionales como la medición de la creatinina sérica, ésta no manifiesta incrementos hasta que la enfermedad ya está muy avanzada. Uno de los primeros cambios que sufren los pacientes con fallo renal agudo es una intensa vasoconstricción en la corteza renal, con una elevación de la resistencia arterial renal que puede ser detectable mediante el uso de la ecografía Doppler (Platt *et al.*, 1992; Novellas *et al.*, 2007c).

El fallo hepático fue diagnosticado en 11 de los pacientes con babesiosis complicada a los que se les realizó la ecografía abdominal. En 5 de ellos, de los cuales 3 también tenían fallo renal, los índices eran superiores a los establecidos como normales, con unos valores medios de 0,719 para los índices de resistencia y de 1,37 para los índices de pulsatilidad, si bien este último índice sólo se obtuvo en 4 de los pacientes. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el estudio realizado por Novellas *et al.* (2007c) en el que tanto los índices de resistencia como los índices de pulsatilidad renales están por encima de su valor de referencia en el 50% de los perros con enfermedad hepática, atribuyendo este hecho a una posible disminución del efecto vasopresor en estos animales.

Como ya hemos comentado, los índices de resistencia pueden ser indicadores potenciales del pronóstico de la enfermedad renal (Ikee *et al.*, 2005). Así, unos índices de resistencia elevados están asociados a una peor evolución (Platt *et al.*, 1997; Splendiani *et al.*, 2002; Ikee *et al.*, 2005). La gran importancia de este aspecto radica en la posibilidad de anticiparnos a un posible empeoramiento del cuadro clínico, evitando lesiones adicionales que puedan llevar a una disfunción definitiva de los riñones (Platt *et al.*, 1988; Platt *et al.*, 1992; Morrow *et al.*, 1996; Melo *et al.*, 2006). Por tanto, nuestros resultados aconsejan la utilización de estos índices, junto con la exploración ecográfica en modo B, al ser indicadores más sensibles que las pruebas bioquímicas para la detección precoz de las alteraciones renales en la babesiosis canina, y confirman su valía como una herramienta de apoyo diagnóstico cuando los hallazgos laboratoriales son dudosos o contradictorios, coincidiendo con otros estudios realizados por nuestro grupo de investigación (Fraga *et al.*, 2007b; Fraga *et al.*, 2007c; Fraga *et al.*, 2008c).

6.3. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES

A continuación realizamos la discusión de los resultados obtenidos en la reevaluación de los pacientes, la cual se efectuó a los 14 días del diagnóstico, previamente a la administración de la segunda dosis del tratamiento con dipropionato de imidocarb. No hemos encontrado en la literatura ningún estudio clínico, con animales infectados de manera natural por *Babesia*, en el que se describa la evolución de los pacientes tras el tratamiento de la enfermedad. Sin embargo, sí existen tres estudios experimentales con perros de raza Beagle infectados mediante la inoculación de *Babesia canis*, en los que se describe la respuesta a dicho tratamiento (Vercammen *et al.*, 1997; Mathé *et al.*, 2006b; Schetters *et al.*, 2009).

6.3.1. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS OBTENIDAS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES

Los valores medios, tanto de la temperatura corporal como de la presión arterial, están dentro de los considerados normales en los tres grupos una vez transcurridos 14 días tras la administración del tratamiento (tablas 36-38 y gráficas 42 y 43).

En el caso de la temperatura, al contrario de lo encontrado en el momento del diagnóstico de la enfermedad, ya no existen diferencias significativas entre los grupos. Únicamente hemos observado un ligero incremento, con valores entre 39,5°C y 40°C, en uno de los pacientes con babesiosis complicada y en otro con babesiosis no complicada grave. Estos resultados coinciden con el estudio llevado a cabo por Schetters *et al.* (2009) en el que los perros recuperaban los valores normales de la temperatura corporal después del tratamiento de la infección. Es importante destacar que en los animales que recibían una menor dosis infectiva la temperatura comenzaba a bajar antes de administrar el tratamiento. Sin embargo, en un estudio llevado a cabo con 3 perros por Mathé *et al.* (2006b) la fiebre persistía en todos ellos tres días después del tratamiento y uno de los perros desarrolló un segundo período febril entre los días 12 y 20 postratamiento, si bien, seguramente esto fue debido a una complicación bacteriana. Por lo tanto, podemos concluir que la temperatura corporal debiera estar normalizada en el momento de la revisión de los pacientes.

La presión arterial sistólica sigue sin presentar diferencias significativas entre los tres grupos, pero a diferencia de lo que ocurre en el momento del diagnóstico de la enfermedad, en el momento de la revisión ningún perro presentó valores compatibles con hipotensión ni con hipertensión arterial.

Además, a pesar de la diversidad de los valores obtenidos, las medias de los tres grupos están dentro de los intervalos de referencia marcados por los distintos autores (Chalifaux *et al.*, 1985; Remillard *et al.*, 1991; Stepien *et al.*, 1999). Esta diversidad en los valores de la presión arterial puede ser atribuida al estrés que sufren los animales en el momento de la medición (Coulter y Keith, 1984; Vincent *et al.*, 1993; Vincent y Michell, 1996), más marcado seguramente en la revisión ya que los perros están más activos e interaccionan en mayor medida con el medio que les rodea.

El hecho de que en este momento ninguno de los perros presente hipotensión concuerda con el estudio llevado a cabo por Schetters *et al.* (2009). Como ya hemos comentado en este trabajo experimental todos los perros sufrieron un descenso de la presión arterial tras la infección. Este descenso fue dependiente de la carga parasitaria, así, en aquellos perros que recibieron una mayor dosis infectiva la presión arterial media bajó de forma repentina a valores inferiores a 60 mmHg a los 3-4 días de la infección. Sin embargo, estos perros recuperaron los valores normales de la presión arterial al día siguiente de su tratamiento con dipropionato de imidocarb. En aquellos animales que recibieron dosis infectivas inferiores la presión arterial media también alcanzó valores de hipotensión, pero los perros recuperaron valores normales antes del tratamiento babesicida.

Ningún paciente presentó hipertensión arterial en el momento de la revisión. Cuando se diagnosticó la enfermedad, únicamente padecían hipertensión dos de los animales con babesiosis complicada, los cuales mostraban valores de la creatinina sérica compatibles con fallo renal. No obstante, estos dos animales murieron a los pocos días del diagnóstico de la babesiosis.

El reflejo doloroso a la palpación abdominal disminuye de manera drástica en todos los grupos estudiados en el momento de la reevaluación de los animales, apareciendo únicamente en uno de los pacientes con babesiosis complicada (11%), en 3 con babesiosis no complicada grave (23%) y en 4 con babesiosis no complicada leve (11%) (gráficas 39-41).

6.3.2. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES HEMATOLÓGICAS OBTENIDAS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES

6.3.2.1. SERIE ROJA

El hematocrito, el recuento total de eritrocitos y la concentración de hemoglobina mostraron un incremento importante con respecto al momento del diagnóstico de la enfermedad, como podemos observar en las tablas 39-41 y en las gráficas 44-46. Estos valores están prácticamente dentro de los considerados como normales en los tres grupos, si bien, el recuento total de glóbulos rojos y el hematocrito, en el caso de los pacientes con babesiosis complicada y no complicada grave, permanecen

todavía ligeramente disminuidos. Así, hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos y los perros con babesiosis no complicada leve, mostrando estos últimos una recuperación completa de los valores medios de los tres parámetros en el momento de la revisión.

Sin embargo, todavía hay perros con anemia en los tres grupos, alcanzando un 55,5% en el grupo de pacientes con babesiosis complicada, un 69% en el de los perros con babesiosis no complicada grave y un 17% en el de los pacientes con babesiosis no complicada leve. Aunque en ningún caso se trataba de anemias graves. Estos resultados coinciden con los estudios realizados por Mathé *et al.* (2006b) y Schetters *et al.* (2009) en los que el hematocrito de los pacientes se elevaba progresivamente después del tratamiento babesicida. Además, Vercammen *et al.* (1997) describieron en un estudio experimental llevado a cabo con perros que infectaban con *Babesia canis*, que los parámetros de la serie roja recuperaban sus valores normales transcurridas cinco semanas tras la infección. En nuestro estudio hay un mayor porcentaje de perros anémicos en los grupos de pacientes con babesiosis complicada y no complicada grave, ya que fueron estos perros los que en el momento del diagnóstico mostraban un mayor grado de anemia.

Los índices eritrocitarios fueron muy similares en los tres grupos y los valores medios estaban dentro de los considerados normales en el perro (tablas 39-41 y gráficas 47-53). Por lo que respecta al grado de regeneración de la anemia, hemos encontrado unos valores superiores del ancho de distribución eritrocitaria, del porcentaje de reticulocitos y del recuento total de reticulocitos en los pacientes con babesiosis no complicada grave respecto a los otros dos grupos. No obstante, ateniéndonos a los resultados hallados para el valor absoluto de reticulocitos corregido pudimos observar como únicamente uno de los pacientes con babesiosis complicada, otro con babesiosis no complicada grave y tres con babesiosis no complicada leve presentaban valores compatibles con una anemia regenerativa. De esta manera, los resultados medios de los tres grupos nos llevan a afirmar que a los 14 días del tratamiento, la anemia continúa siendo normocítica, normocrómica y no regenerativa.

Estos resultados difieren de los obtenidos por Mathé *et al.* (2006b), en cuyo estudio la anemia era regenerativa a los 5-7 días de la primera detección del parásito en la sangre periférica de los perros infectados. Sin embargo, Vercammen *et al.* (1997) describieron que la anemia era ligeramente hipocrómica y macrocítica transcurridos 12 días tras la infección y que no se convertía en regenerativa hasta los 28 días postinfección. Debemos tener en cuenta que, por lo general, en una anemia hemolítica la médula ósea sólo requiere 3 días para que ésta se convierta en macrocítica y regenerativa, encontrándose una respuesta máxima de reticulocitos a los 4-7 días (Giger, 2007), por lo que, según nuestros resultados, en la babesiosis canina esta respuesta regenerativa se produce de manera más tardía.

6.3.2.2. SERIE BLANCA

Los valores medios de toda la serie blanca han recuperado la normalidad en los tres grupos estudiados en el momento de la reevaluación de los animales (tablas 39-41 y gráficas 54-59). No obstante, si bien ninguno de los pacientes mostró en este momento un incremento del valor de estos parámetros, un 22% de los pacientes del grupo con babesiosis complicada y un 14% de los pacientes con babesiosis no complicada leve continuaban con leucopenia. En cuanto al resto de los parámetros de la serie blanca los únicos hallazgos destacables han sido la eosinopenia en el 11% de los perros con babesiosis complicada, en el 8% con babesiosis no complicada grave y en el 11% con babesiosis no complicada leve; y una neutropenia muy leve en el 6% de los pacientes con babesiosis no complicada leve.

En el estudio experimental llevado a cabo por Schetters *et al.* (2009) toda la serie blanca recuperaba rápidamente los valores normales tras el tratamiento babesicida con dipropionato de imidocarb, mientras que Vercammen *et al.* (1997) exponen que esta recuperación es más tardía y que los perros no recuperan los valores normales de la serie blanca hasta transcurridas 11 semanas. Además, en este trabajo los animales desarrollaron eosinofilia a partir de la séptima semana. Mathé *et al.* (2006b) describieron una leucocitosis con neutrofilia a los 4-12 días tras la infección en dos de los tres perros tratados con imidocarb tres días después de la infección, si bien, ambos habían sido esplenectomizados. Transcurrido este período los dos animales recuperaban los valores normales del recuento total de glóbulos blancos. Esta respuesta, conocida como reacción leucemoide, es un hallazgo ocasional en la babesiosis canina, y puede ser un indicador más temprano, aunque no más específico, que el recuento de reticulocitos a la hora de valorar la respuesta de la médula ósea (Taboada, 1998). En este estudio, uno de los perros también desarrolló una importante eosinofilia a los 11 días de la infección.

Por lo tanto, nuestros hallazgos, junto con los descritos en los distintos estudios experimentales, sugieren que el tratamiento babesicida ayuda a la mayoría de los pacientes a recuperar valores normales para la serie blanca en un período inferior a las dos semanas, si bien la respuesta es variable en función del sistema inmune de cada paciente.

6.3.2.3. PLAQUETAS

A los 14 días del tratamiento babesicida, los valores medios del recuento plaquetario fueron completamente normales en los tres grupos (tablas 39-41 y gráfica 60). Es importante destacar que ninguno de los pacientes mostró trombocitopenia en este momento.

Estos resultados coinciden con los obtenidos en los estudios realizados por Mathé *et al.* (2006b) y Schetters *et al.* (2009), en los cuales todos los perros recuperaban valores normales del número de plaquetas dentro de los 4 días siguientes al tratamiento. Es importante resaltar la importancia del tratamiento en esta recuperación del recuento plaquetario, ya que en el estudio realizado por Mathé *et al.* (2006b), el perro que no recibió tratamiento babesicida mantuvo la trombocitopenia durante todo el período de observación.

Respecto a los índices plaquetarios, MPV y PDW, ambos mostraron valores similares en los tres grupos. No obstante, mientras que el MPV recuperó valores normales, el PDW continuó incrementado en todos los grupos (tablas 39-41 y gráficas 61 y 62). Esto refleja el carácter regenerativo de la trombocitopenia provocada por la babesiosis canina, que sigue patente en el momento de la revisión de los pacientes.

6.3.3. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES BIOQUÍMICAS OBTENIDAS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES

6.3.3.1. CONCENTRACIONES DE FOSFATASA ALCALINA, ALANINA AMINOTRANSFERASA Y BILIRRUBINA TOTAL

La fosfatasa alcalina y la bilirrubina total mostraron valores medios normales en los tres grupos estudiados, mientras que los niveles séricos de la alanina aminotransferasa seguían significativamente aumentados en el grupo de pacientes con babesiosis complicada (tablas 42-44 y gráficas 63-65). Las concentraciones de fosfatasa alcalina se encontraban por encima de las 212 U/l, establecido como límite superior en animales adultos, en un 22% de los pacientes con babesiosis complicada, mientras que en los grupos de babesiosis no complicada grave y leve esto ocurrió en un 15% y en un 3% de los casos respectivamente. No obstante, es importante señalar que, mientras que en el grupo de pacientes con babesiosis complicada se trataba de animales viejos, por encima de los 8 años de edad, los pacientes con babesiosis no complicada presentaban una edad inferior a los 6 meses. En animales jóvenes el límite superior para los valores de la fosfatasa alcalina se sitúa en 337 U/l, no siendo superado este valor por ninguno de los animales de nuestro estudio. La presencia de un límite más elevado en el caso de los animales jóvenes se debe al aumento de la actividad de los osteoblastos asociado al crecimiento de los huesos en estos animales, lo que produce un aumento leve de la fosfatasa alcalina sérica total (Webster, 2007).

En el caso de la alanina aminotransferasa, un 33% de los pacientes con babesiosis complicada mostraban valores superiores a las 100 U/l, mientras que ninguno de los perros con babesiosis no

complicada grave o leve presentaban valores superiores a 100 U/l ni a 75 U/l, límites superiores en el caso de animales adultos y menores de 6 meses respectivamente. Además, debemos tener en cuenta que en el momento de la revisión ninguno de los animales presentaba una hepatopatía, según los criterios que hemos utilizado para la clasificación de los pacientes, a pesar de que en el momento del diagnóstico de la enfermedad 8 de ellos fueron diagnosticados de fallo hepático, en función de la elevación de sus enzimas hepáticas. Por último, todos los perros mostraron valores normales de la bilirrubina total en el momento de la revisión y ninguno de ellos mostró ictericia.

Las hepatopatías transitorias encontradas en nuestro estudio pueden deberse al daño hipóxico o a las citoquinas inflamatorias que producen una inflamación hepatocelular difusa, lo cual ha sido descrito por Taboada y Lobetti (2006) en la babesiosis canina. Estos resultados ponen de manifiesto la gran capacidad de regeneración hepática y el escaso valor de los parámetros utilizados a la hora de emitir un pronóstico en estos pacientes.

Nuestros resultados coinciden con los del estudio realizado por Mathé *et al.* (2006b), en el cual la elevación de la alanina aminotransferasa en los primeros días tras la infección, más marcada en el caso de los perros esplenectomizados, indicaba un fallo hepático agudo, atribuido por los autores al daño hipóxico provocado por la anemia existente en estos animales. No obstante, estos perros recuperaban los valores normales de alanina aminotransferasa a los 10-12 días del tratamiento. Vercammen *et al.* (1997) también describieron aumentos moderados y temporales de la fosfatasa alcalina, la alanina aminotransferasa y la bilirrubina total durante la primera fase de la infección.

6.3.3.2. CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO UREICO SANGUÍNEO Y CREATININA

El nitrógeno ureico sanguíneo y la creatinina sérica presentaron valores medios normales en todos los grupos en el momento de la revisión (tablas 42-44 y gráficas 66 y 67). Sin embargo, el BUN apareció aumentado en un 33% de los pacientes con babesiosis complicada, en un 23% de los perros con babesiosis no complicada grave y en un 26% de los pacientes con babesiosis no complicada leve, aunque estos incrementos fueron muy inferiores a los encontrados en el momento del diagnóstico de la enfermedad. Por lo que respecta a la creatinina sérica ninguno de los pacientes mostró valores elevados en el momento de la revisión.

No obstante, debemos tener en cuenta que de los 11 pacientes diagnosticados de fallo renal en este estudio en función de la elevación de la creatinina sérica, 7 murieron antes de la realización de la revisión, lo que equivale a un porcentaje del 64%. Además, es importante resaltar que los 7 pacientes que no sobrevivieron presentaban unas concentraciones de creatinina sérica superiores a los 3 mg/dl, mientras que en los otros 4 casos los valores de la creatinina nunca llegaron a esta concentración.

Estos resultados coinciden con los descritos por Lobetti y Jacobson (2001) en Sudáfrica, en los que las mayores concentraciones de creatinina están relacionadas con un incremento del riesgo de muerte en la babesiosis canina.

En lo que respecta a los 4 animales diagnosticados de fallo renal que no murieron, dos de ellos no acudieron a la revisión y en los otros dos la concentración de creatinina sérica recuperó valores normales a los 14 días del tratamiento. Seguramente en estos casos esta ligera elevación sea atribuible a la disminución del flujo sanguíneo renal como resultado del descenso de la presión arterial y/o de la volemia (Lobetti y Jacobson, 2001; DiBartola, 2007). Estos resultados coinciden con los encontrados en el estudio experimental realizado por Mathé *et al.* (2006b) en el que dos de los tres perros mostraron una azotemia moderada entre los días 10 y 28 posteriores a la infección; sin embargo, difieren completamente de los descritos por Schetters *et al.* (2009) donde la creatinina presentaba una pauta descendente tras la infección, mostrando una correlación lineal positiva con el valor hematocrito. Los valores de la creatinina sérica recuperaban valores normales tras el tratamiento babesicida de los animales y los autores de este trabajo explicaron este descenso en base a un aumento del volumen plasmático de la sangre que produce la infección por *Babesia canis*.

Podemos concluir afirmando que, al contrario de lo que sucedía con los parámetros hepáticos estudiados, los valores de la creatinina sérica sí se deben tener muy en cuenta a la hora de valorar el pronóstico en los perros afectados de babesiosis.

6.3.3.3. CONCENTRACIONES DE GLUCOSA Y PROTEÍNAS TOTALES

Las concentraciones séricas de glucosa y de proteínas totales de todos los pacientes presentaron valores normales en el momento de la revisión, con unos valores medios muy similares en los tres grupos (tablas 42-44 y gráficas 68 y 69).

Según nuestros conocimientos, no existe ningún estudio que valore la evolución de estos parámetros en perros enfermos de babesiosis. No obstante, en función de nuestros resultados podemos afirmar que la concentración de proteínas séricas no es un parámetro a tener en cuenta a la hora de establecer un pronóstico en los perros infectados por *Babesia canis*, debido a que todos los pacientes, tanto con babesiosis complicada como no complicada, recuperaron los valores normales tras el tratamiento babesicida.

No podemos afirmar lo mismo en cuanto a la concentración plasmática de glucosa ya que, a pesar de que todos los perros mostraron niveles normales en el momento de la revisión, debemos resaltar el hecho de que 6 de los 13 pacientes (46%), 5 con babesiosis complicada (62,5%) y 1 con babesiosis no complicada grave (50%), que presentaron hiperglucemia en el momento del diagnóstico de la enfermedad murieron antes de los 14 días establecidos para la realización de la revisión. Sin

embargo, el único perro que presentaba hipoglucemia se recuperó sin problemas, mostrando valores totalmente normales en el momento de la revisión. Por lo tanto, nuestros resultados están en total desacuerdo con los encontrados por Keller *et al.* (2004) y Nel *et al.* (2004) en Sudáfrica, que exponían que la hiperglucemia, al contrario que la hipoglucemia, no era un buen indicador de la gravedad de la babesiosis, ya que en nuestro estudio, si bien no hemos encontrado una relación entre la gravedad de la hiperglucemia y la evolución de los pacientes, sí existe una clara asociación entre la presencia de hiperglucemia y la muerte de los animales.

6.3.4. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES ECOGRÁFICAS OBTENIDAS EN LA REEVALUACIÓN DE LOS ANIMALES

Como ya hemos comentado, la realización de una segunda ecografía abdominal a los 14 días del diagnóstico y tratamiento de los animales afectados de babesiosis fue posible en 34 de los pacientes, 6 con babesiosis complicada, 8 con babesiosis no complicada grave y 20 con babesiosis no complicada leve. En esta segunda ecografía el porcentaje de lesiones encontradas tanto en el bazo como en el hígado y en los riñones se redujeron de forma importante (tablas 45-48). Las lesiones esplénicas siguen siendo las más prevalentes, aunque en esta ocasión son los pacientes con babesiosis no complicada grave los que las presentaron en un mayor número de ocasiones. Las lesiones hepáticas presentaron un porcentaje ligeramente superior a las renales y ambas son más frecuentes en los pacientes con babesiosis complicada.

6.3.4.1. LESIONES ESPLÉNICAS

Las lesiones esplénicas se mantienen en 2 de los 6 pacientes con babesiosis complicada a los que se les realizó la segunda ecografía abdominal (33,3%). Uno de estos perros presentaba esplenomegalia difusa con cambios en la ecotextura y en la ecogenicidad (ecotextura gruesa y parénquima hipoecogénico); mientras que en el otro únicamente apreciamos una ecotextura alterada (tablas 45 y 48).

En el caso de los 8 perros con babesiosis no complicada grave, 5 de ellos seguían mostrando lesiones difusas en el bazo (62,5%), caracterizadas en todos los casos por un aumento del tamaño esplénico y presencia de alteraciones tanto de la ecotextura como de la ecogenicidad (tablas 46 y 48).

Por último, 5 de los 20 perros con babesiosis no complicada leve a los que se les realizó la segunda ecografía de abdomen presentaban alteraciones esplénicas (25%). En todos los casos observamos una ecotextura gruesa y en 4 de los pacientes también esplenomegalia y un parénquima hipoecogénico (tablas 47 y 48).

En función de nuestros resultados podemos afirmar que un elevado porcentaje de los animales recuperan la apariencia ecográfica normal del bazo a los 14 días de la administración del tratamiento babesicida; si bien, son aquellos pacientes del grupo con babesiosis no complicada grave los que siguen presentando un mayor porcentaje de lesiones en este órgano. Seguramente esto se deba al elevado grado de anemia que mostraban estos animales, lo que lleva a un mayor estímulo de la actividad retículoendotelial del bazo y a la persistencia durante más tiempo de las alteraciones antes descritas.

6.3.4.2. LESIONES HEPÁTICAS

En la reevaluación de los animales con babesiosis la única alteración hepática observada fue la disminución de la ecogenicidad del parénquima, ya que en este momento ninguno de los perros evaluados mostraba hepatomegalia. El grupo con mayor porcentaje de animales afectados continuó siendo el de los perros con babesiosis complicada, con una prevalencia del 33,3%, seguido del de pacientes con babesiosis no complicada leve con un 15% y del de no complicados graves con un 12,5% (tablas 45-48).

Por lo tanto, teniendo en cuenta que en ninguno de los perros reevaluados se detecta fallo hepático en función de los resultados de la bioquímica sérica, aunque en uno de los pacientes con babesiosis complicada que tenía el parénquima hepático hipoeecogénico los valores de la fosfatasa alcalina y de la alanina aminotransferasa estaban ligeramente aumentados, es la ecografía abdominal la que pone de manifiesto que el hígado de estos animales no se ha recuperado por completo a los 14 días del tratamiento babesicida. A la vista de estos resultados, podría ser interesante el haber incluido otro tipo de pruebas para valorar la funcionalidad hepática de estos pacientes, como son los ácidos biliares, el amoniaco o la albúmina.

6.3.4.3. LESIONES RENALES

Las lesiones renales observadas en la reevaluación de los pacientes presentaron una frecuencia mucho más baja que en el momento del diagnóstico de la enfermedad, apareciendo únicamente aumento de la ecogenicidad renal en uno de los animales de cada grupo, lo que corresponde a un 16,7% en el caso de los perros con babesiosis complicada, a un 12,5% en los pacientes con babesiosis no complicada grave y a un 5% en el caso de los perros con babesiosis no complicada leve (tablas 45-48).

Como hemos podido observar en este estudio, el fallo renal es una complicación frecuente de la babesiosis en nuestra zona de trabajo, y a menudo mortal, por lo que es importante destacar la existencia de estas lesiones renales en alguno de los pacientes a pesar de que la concentración de creatinina sérica estuviera dentro de los límites normales establecidos en el perro.

En lo referente a la hemodinámica renal, los resultados obtenidos tanto para los índices de resistencia como para los índices de pulsatilidad continúan siendo más elevados que los del grupo control y que los descritos como normales en diferentes estudios (Nyland *et al.*, 1993; Morrow *et al.*, 1996; Novellas *et al.*, 2007), aunque ninguno de los pacientes presentaba valores lo suficientemente elevados como para que pudieran ser considerados patológicos (tablas 49-51). En el momento de la reevaluación, sólo encontramos diferencias significativas respecto al grupo control en los índices de resistencia de los pacientes con babesiosis no complicada grave, lo que puede deberse al mayor grado de anemia que aún existe en este grupo respecto a los pacientes con babesiosis complicada y no complicada leve. No obstante, debemos tener en cuenta el hecho de que estos valores sigan elevados para poder anticiparnos a un posible empeoramiento del cuadro clínico que pueda llevar finalmente a un fallo renal en estos animales. Como ya hemos comentado, la presencia de unos índices de resistencia elevados está relacionada con una peor evolución (Platt *et al.*, 1997; Splendiani *et al.*, 2002; Ikee *et al.*, 2005), por lo que es recomendable el seguimiento de estos pacientes, así como instaurar un tratamiento de apoyo en los casos en los que sea necesario.

6.4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE LOS ANIMALES

En este estudio hemos alcanzado una tasa de mortalidad del 12,5%, similar a la encontrada por Matijatko *et al.* (2009) en Croacia, que fue de un 13,9% y a la descrita por Nel *et al.* (2004) en Sudáfrica, del 12%, y muy superior a la aportada por Martinod *et al.* (1986) en Francia que fue del 1,5%. Estos resultados descritos en los últimos estudios realizados en Europa ponen en duda la teoría establecida de que la subespecie existente en Sudáfrica, *Babesia canis rossi*, es mucho más virulenta que las existentes en Europa, mayoritariamente *Babesia canis canis*, aunque también se ha descrito la presencia de *Babesia canis vogeli* en muchos países europeos.

La mortalidad ha sido mucho más elevada en el grupo de pacientes con babesiosis complicada, en el que ha presentado una prevalencia del 42,3%, mientras que en el grupo de pacientes con babesiosis no complicada grave supuso un 9,1% y en el grupo con babesiosis no complicada leve no murió ningún perro. Por lo tanto, la clasificación de los animales con babesiosis en función del grado de complicación es muy útil a la hora de dar un primer pronóstico a los propietarios.

6.4.1. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES CLÍNICAS OBTENIDAS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE LOS ANIMALES

Las edades de los perros que no sobrevivieron a la infección por *Babesia canis* fueron muy distintas en función del grupo al que pertenecían (tablas 52 y 53). Así, en el grupo con babesiosis complicada la media de edad de estos animales fue cercana a los 7 años y en el grupo con babesiosis no complicada grave no alcanzó el año de edad. De los 11 perros con babesiosis complicada, 7 tenían una edad superior a los siete años y, de los 4 restantes, 2 de ellos eran menores al año de edad; mientras que los dos perros que pertenecían al grupo con babesiosis no complicada grave eran menores al año de edad. Estos resultados ponen de manifiesto que son los animales más viejos, con una edad superior a los 7 años, y los menores al año de edad los que presentan un mayor riesgo de muerte ante la babesiosis canina.

En el caso de los perros más viejos, como ya hemos comentado, esto puede ser debido a la mayor probabilidad que presentan estos animales de sufrir alguna complicación de la babesiosis (Taboada y Merchant, 1991; Jacobson y Clark, 1994; Lobetti, 1998), pudiendo llegar a convertirse la enfermedad en mortal a pesar del tratamiento. En el otro extremo, los animales con menos de un año

de edad, seguramente no hayan tenido contactos previos con el parásito, por lo que su respuesta inmune ante la infección por *Babesia* no es tan rápida y efectiva.

El peso de los animales fue muy variable (tablas 52 y 53), por lo que no parece haber ninguna relación entre el tamaño de los pacientes y la mortalidad provocada por la infección, aunque el hecho de que en el grupo con babesiosis no complicada grave ambos pacientes fuesen cachorros hace que su peso medio sea muy inferior al del grupo con babesiosis complicada.

Por lo que respecta a la temperatura corporal ésta fue mucho más elevada en el caso de los pacientes con babesiosis no complicada grave, cuyo valor medio se situó en los 39,75 °C, superando ambos animales los 39,5 °C. En el caso de los pacientes con babesiosis complicada el valor medio se situó en los 38,20 °C, si bien, esta fue muy variable, presentando 4 perros una temperatura inferior a los 37,5 °C y 2 una temperatura superior a los 39,5 °C (tablas 52 y 53). Es importante destacar que 4 de los 5 pacientes que se presentaron con hipotermia, con valores de temperatura corporal inferiores a los 37,5 °C, no lograron superar la infección, lo que supone un 80%. Por lo tanto, podemos afirmar que la hipotermia puede ser un factor pronóstico negativo importante ya que su presencia está relacionada con una alta tasa de mortalidad.

En lo referente a la presión arterial sistólica el valor medio fue inferior en los animales con babesiosis no complicada grave (tablas 52 y 53), presentando ambos pacientes valores compatibles con hipotensión. En el caso de los pacientes con babesiosis complicada cabe destacar la presencia de 7 perros con valores inferiores a los 100 mmHg, correspondiendo a tres pacientes diagnosticados de fallo renal y fallo hepático, a uno con fallo hepático, a otro con fallo hepático y edema pulmonar y a dos con babesiosis cerebral. También es importante destacar la presencia de dos perros diagnosticados de fallo renal que tenían una presión arterial superior a los 200 mmHg. Estos resultados confirman la utilidad de la presión arterial a la hora de valorar el pronóstico en los perros afectados de babesiosis, puesto que 7 de los 10 pacientes con babesiosis complicada (70%) y 2 de los 7 pacientes con babesiosis no complicada grave (29%), que presentaban valores de hipotensión para la presión arterial sistólica, murieron a pesar del tratamiento. Además, los únicos 2 pacientes que tenían hipertensión en este estudio, con valores superiores a los 200 mmHg, tampoco lograron superar la infección debido a la presencia de un fallo renal.

Por tanto, al igual que sucede en los casos de babesiosis canina diagnosticados en Sudáfrica (Jacobson *et al.*, 2000), la prevención del shock gracias a una temprana monitorización de la presión arterial y una apropiada fluidoterapia es una estrategia racional en perros con babesiosis complicada y no complicada grave.

Como ya hemos comentado el reflejo doloroso a la palpación abdominal fue un hallazgo muy frecuente en este estudio, así, únicamente 3 de los pacientes con babesiosis complicada que no

sobrevivieron no lo presentaban (gráficas 70 y 71), sin embargo su presencia, a pesar de que puede ayudar al diagnóstico de la babesiosis, no es útil a la hora de establecer el pronóstico en estos pacientes.

6.4.2. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES HEMATOLÓGICAS OBTENIDAS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE LOS ANIMALES

La anemia fue un hallazgo constante en todos los animales que no lograron sobrevivir a la infección por *Babesia canis* (tablas 54 y 55). En lo que se refiere a la gravedad de la anemia, hemos detectado anemia grave en 5 de los 11 pacientes con babesiosis complicada (45%), además de en los dos pacientes con babesiosis no complicada grave. Como ya hemos comentado, en todos los casos la anemia fue normocítica, normocrómica y no regenerativa. Debemos tener en cuenta que la anemia apareció en un 86,5% de los perros de este estudio y que en el caso de los animales con babesiosis complicada fue grave en un 38% de ellos, por lo que su presencia y gravedad no se puede relacionar con el pronóstico de la enfermedad.

En cuanto a la serie blanca los valores fueron muy variables (tablas 54 y 55), destacando los valores extremos, ya que hemos encontrado leucopenia en 4 de los pacientes con babesiosis complicada (36%) y en los dos pacientes con babesiosis no complicada grave (100%); mientras que 3 de los pacientes con babesiosis complicada mostraban leucocitosis (27%) asociada a neutrofilia en todos los casos. Otro hallazgo destacable fue la eosinopenia, presente en 5 de los 6 pacientes leucopénicos, así como la linfopenia y la neutropenia que mostraron 2 de estos pacientes. La monocitosis también apareció en 4 de los animales que no sobrevivieron, asociada en dos ocasiones con la leucocitosis. La importancia de las variaciones de la serie blanca en la babesiosis canina todavía no se ha esclarecido, si bien, en función de nuestros resultados, no parece que juegue un papel importante en el pronóstico de la enfermedad.

El valor medio del recuento plaquetario tanto de los pacientes con babesiosis complicada como no complicada grave que no sobrevivieron, se situó por debajo de los valores considerados como normales en el perro (tablas 54 y 55), sin embargo, esta trombocitopenia fue leve en el caso de los pacientes con babesiosis complicada y grave en los pacientes con babesiosis no complicada grave.

Es importante destacar que de los únicos 3 pacientes pertenecientes al estudio que no tenían trombocitopenia, 2 de ellos se encontraban en el grupo de animales con babesiosis complicada que no sobrevivieron. No obstante, este dato parece irrelevante ya que la trombocitopenia es un hallazgo prácticamente constante en la babesiosis canina y que, junto con la anemia, puede ayudar al diagnóstico de la misma, pero parece no influir de forma significativa en el pronóstico de la enfermedad.

Por lo que respecta a los índices plaquetarios, tanto el valor medio del MPV como del PDW aparecieron elevados en los dos grupos, lo que muestra el carácter regenerativo de la trombocitopenia en la mayoría de los perros que conforman este estudio.

6.4.3. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES BIOQUÍMICAS OBTENIDAS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE LOS ANIMALES

Las concentraciones medias tanto de la fosfatasa alcalina como de la alanina aminotransferasa se hallaron dentro de las consideradas como normales en los dos grupos, mientras que la de la bilirrubina total apareció elevada en los pacientes con babesiosis complicada (tablas 56 y 57). Sin embargo, mientras que los valores de estos tres parámetros se encontraban dentro de la normalidad en los dos pacientes con babesiosis no complicada grave que no sobrevivieron, en los pacientes con babesiosis complicada hemos encontrado 4 perros con elevaciones de la fosfatasa alcalina, 2 con valores elevados de la alanina aminotransferasa y 7 con incrementos en los valores de la bilirrubina total. Es importante destacar que las elevaciones tanto de la fosfatasa alcalina como de la alanina aminotransferasa no fueron muy marcadas en ninguno de los casos y en todos los animales que no sobrevivieron la hepatopatía se había diagnosticado en base a la ictericia que presentaban en el momento del diagnóstico de la babesiosis. Así, las elevaciones de los valores tanto de la fosfatasa alcalina como de la alanina aminotransferasa no tienen importancia a la hora de establecer el pronóstico en los pacientes afectados de babesiosis en nuestra zona de trabajo, ya que la evolución fue favorable en los 8 casos en los que ambas enzimas superaban el doble de su valor normal, mostrando un descenso importante de ambas a los 14 días del tratamiento babesicida. Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Jacobson (2006) en Sudáfrica, donde los valores séricos de la ALP están significativamente aumentados en los perros que mueren con relación a los supervivientes, y donde las tasas de mortalidad se duplican si la concentración de la ALT es superior a 40 UI/l o si los valores séricos de la ALP son mayores a 180 UI/l.

Sin embargo, el aumento de la concentración sérica de la bilirrubina total sí que parece estar asociada con un aumento de la mortalidad en los pacientes con babesiosis complicada, ya que 7 de los 9 perros que presentaron un aumento de la misma en el momento del diagnóstico de la babesiosis no sobrevivieron, significando un 78%; por lo que este parámetro sí puede ser utilizado como índice pronóstico en los pacientes con babesiosis.

En lo que respecta a los parámetros indicativos de una posible afección renal, hemos encontrado una elevación del valor del nitrógeno ureico sanguíneo en ambos grupos, mientras que la creatinina sérica apareció incrementada en un 64% de los pacientes con babesiosis complicada que no sobrevivieron (tablas 56 y 57). Como ya hemos comentado, en ningún caso el aumento aislado del

nitrógeno ureico sanguíneo puede ser utilizado para valorar una insuficiencia renal en perros con babesiosis (Lobetti y Jacobson, 2001; de Scally *et al.*, 2004; de Scally *et al.*, 2006; Lobetti, 2007b). No obstante, el hecho de que 7 de los 13 pacientes que no sobrevivieron presentaran concentraciones de creatinina sérica superiores a los 3 mg/dl (54%), pone de manifiesto que el fallo renal es una complicación grave, y con frecuencia mortal, de la babesiosis canina en nuestra zona de trabajo. Estos resultados indican el elevado valor pronóstico de la creatinina sérica en los pacientes con babesiosis y coinciden con los descritos por Lobetti y Jacobson (2001) en Sudáfrica, en los que la elevación de la creatinina está relacionada con un incremento del riesgo de muerte en la babesiosis canina.

Nuestros resultados también coinciden con otro estudio llevado a cabo en Sudáfrica por Welzl *et al.* (2001) ya que describieron que los daños orgánicos específicos que se asocian con un peor pronóstico son los que afectan al cerebro, a los pulmones y a los riñones; mientras que las lesiones hepáticas y las musculares, aunque se observan con frecuencia, no parecen tener tanta relevancia en la evolución.

En cuanto a la concentración media de glucosa, ésta apareció elevada en los dos grupos (tablas 56 y 57). Cabe destacar que 6 de los pacientes que fallecieron presentaban hiperglucemia, 5 del grupo con babesiosis complicada y uno del grupo con babesiosis no complicada grave, lo que supone un 46% del total de los fallecidos. En el caso de los pacientes con babesiosis complicada, el fallo hepático fue la complicación más comúnmente asociada a la hiperglucemia, presentándolo 4 de los 5 perros que no sobrevivieron, si bien en tres de ellos estaba asociado con otras complicaciones como el fallo renal y/o el edema pulmonar. El otro paciente con babesiosis complicada e hiperglucemia que no sobrevivió presentaba babesiosis cerebral. No obstante, no hemos encontrado relación entre el grado de hiperglucemia y la muerte de los pacientes infectados por *Babesia canis*. Por otro lado, la hipoglucemia no apareció en ninguno de los perros que no sobrevivieron. Como ya hemos comentado, nuestros resultados no coinciden con los encontrados por Keller *et al.* (2004) y Nel *et al.* (2004) en Sudáfrica, que exponían que la hiperglucemia no era un buen indicador de la gravedad de la babesiosis, ya que en nuestro estudio sí existe una clara asociación entre la presencia de hiperglucemia y la muerte de los animales.

La concentración plasmática de proteínas totales fue muy variable en los perros que no sobrevivieron (tablas 56 y 57); así, dos de los pacientes con babesiosis complicada y uno con babesiosis no complicada grave presentaban una leve hipoproteinemia, mientras que la hiperproteinemia apareció en 3 de los pacientes con babesiosis complicada. Estos resultados muestran que no hay relación entre las variaciones de este parámetro y la mortalidad producida por el hemoparásito *Babesia canis* en nuestra zona de trabajo.

6.4.4. DISCUSIÓN DE LAS VARIABLES ECOGRÁFICAS OBTENIDAS EN FUNCIÓN DE LA SUPERVIVENCIA DE LOS ANIMALES

Como ya hemos comentado la ecografía abdominal sólo se llevó a cabo en 7 de los animales con babesiosis complicada que finalmente no sobrevivirían a la infección, debido a la gravedad de estos pacientes en el momento en que se realizó su diagnóstico. En estos perros las lesiones más prevalentes fueron las lesiones esplénicas, que aparecieron en la totalidad de los animales que no sobrevivieron, mientras que las lesiones renales las mostraron un 71% y las hepáticas un 57% de estos animales (tabla 58).

Todos los animales con fallo renal que no sobrevivieron presentaban lesiones en ambos riñones, además, en 4 de estos 5 perros los índices de resistencia estaban significativamente elevados (tabla 59) respecto al grupo control y lo suficientemente incrementados como para considerarlos patológicos según los estudios realizados por Nyland *et al.* (1993), Morrow *et al.* (1996) y Novellas *et al.* (2007).

En relación a los 4 perros con lesiones hepáticas diagnosticables ecográficamente, 2 de ellos presentaban fallo hepático y fallo renal, y de los otros 2, uno tenía fallo renal y el otro babesiosis cerebral. Los índices de resistencia de los dos primeros perros eran patológicos, mientras que los de los otros dos presentaban valores normales.

Estos resultados confirman la existencia de lesiones renales en aquellos perros que presentan valores elevados de la creatinina sérica. Mientras que los valores de las enzimas hepáticas, de la fosfatasa alcalina y de la alanina aminotransferasa, son mucho menos fiables a la hora de valorar la existencia de lesiones hepáticas en los perros con babesiosis.

En lo referente a la hemodinámica renal, como ya hemos comentado, el valor de los índices de resistencia apareció significativamente incrementado en 4 de los 5 perros con fallo renal que no sobrevivieron, coincidiendo este hallazgo con los estudios realizados por Platt *et al.* (1997), Splendiani *et al.* (2002) y Ikee *et al.* (2005) donde los pacientes que presentaban unos índices de resistencia elevados mostraban una peor evolución. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren la utilización de estos índices a la hora de establecer un pronóstico en los pacientes afectados de babesiosis, sobre todo en aquellos que ya presentan unos valores laboratoriales compatibles con una afección renal.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

7.1. CONCLUSIONES

1. Confirmamos la importancia de la aptitud y del ambiente en el que viven los perros de este estudio a la hora de contraer la babesiosis. Sin embargo, no existe predisposición racial o de sexo.
2. El aumento de la temperatura corporal, el dolor abdominal, la anemia moderada, la trombocitopenia marcada y constante, la concentración de nitrógeno ureico sanguíneo elevada y la esplenomegalia, son los hallazgos más característicos de la babesiosis canina en nuestra zona de trabajo y que, por tanto, ayudan al diagnóstico presuntivo de la enfermedad.
3. Las complicaciones más frecuentes de la babesiosis canina son el fallo hepático y el fallo renal.
4. La evolución de los pacientes infectados por *Babesia canis* y tratados con dipropionato de imidocarb está condicionada por la edad, la temperatura corporal, los valores de la presión arterial sistólica y las concentraciones séricas de creatinina, bilirrubina total y glucosa.
5. La ecografía permite evaluar las lesiones producidas por esta enfermedad a nivel esplénico, hepático y renal, detectándose un mayor número de lesiones en el grupo de pacientes con babesiosis complicada. Las lesiones esplénicas han sido las más frecuentes en este estudio.
6. Las lesiones esplénicas y hepáticas diagnosticadas mediante ecografía no guardan relación con el grado de complicación de la babesiosis ni permiten establecer el pronóstico de la enfermedad. Sin embargo, sí existe correlación entre las lesiones renales y el grado de complicación de la babesiosis.

7. La ecografía en modo B junto con los índices de resistencia y pulsatilidad renales son indicadores más sensibles que las pruebas bioquímicas para la detección precoz de las alteraciones renales en la babesiosis canina.
8. La tasa de mortalidad en nuestro estudio ha sido similar a la encontrada recientemente en otros países europeos y en Sudáfrica. Esta tasa ha sido muy superior en el grupo de pacientes con babesiosis complicada, siendo el fallo renal la complicación que provoca una mayor mortalidad.
9. La utilización de la clasificación propuesta por Jacobson y Clark (1994) es válida en perros infectados por *Babesia canis* en nuestro entorno. Además, nos permite establecer el pronóstico en cada paciente.

7.2. CONCLUSIONS

1. In this study, we have confirmed the importance of the dog's lifestyle and environment as a risk factor to acquire babesiosis. However, no breed or gender predisposition was found.
2. Pyrexia, abdominal pain, moderate anaemia, severe and persistent thrombocytopenia, an increased concentration of BUN and splenomegaly, were the clinical findings of canine babesiosis most frequently reported in our work area. Therefore, these findings could help in formulating a presumptive diagnosis of the disease.
3. The complications of canine babesiosis reported most frequently were hepatic and renal failure.
4. The outcome of the dogs with babesiosis treated with imidocarb dipropionate was dependant on the age of the patients, their body temperature, systolic blood pressure and serum concentrations of creatinine, total bilirubin and glucose.
5. Ultrasound allowed the assessment of the lesions caused by babesiosis in the spleen, liver and kidneys. A higher number of lesions were found in the group of complicated babesiosis. In this study, the lesions most frequently reported were found in the spleen.
6. The splenic and hepatic lesions diagnosed by ultrasound did not correlate with the degree of complication of babesiosis. These lesions did not help to establish the prognosis of the disease. However, there was a correlation between the renal lesions and the degree of complication of babesiosis.
7. The B mode ultrasound together with the renal resistive and pulsatility indices were more sensitive indicators than the biochemical parameters for the early detection of renal failure in canine babesiosis.
8. The mortality rate in this study was similar to that reported in other European countries and in South Africa. The mortality was higher in the group of complicated babesiosis. The complication with the highest mortality rate was renal failure.
9. The classification used by Jacobson and Clark (1994) is valid for dogs infected by *Babesia canis* in our work area. In addition, it allowed us to establish the prognosis for each patient.

BIBLIOGRAFÍA

8. BIBLIOGRAFÍA

- ABDULLAHI, SU Y SANNUSI, A. 1986. Canine babesiosis. En: Kirk, RW (ed.), Current Veterinary Therapy 9, Small Animal Practice. WB Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 1096-1098.
- ABDULLAHI, SU; MOHAMMED, AA Y TRIMNELL, AR. 1990. Clinical and haematological findings in 70 naturally occurring cases of canine babesiosis. J Small Anim Pract. 31: 145-147.
- ABILDGAARD, A; KLOW, NE; JAKOBSEN, JA; EGGE, TS Y ERIKSEN, M. 1997. Effect of ultrasound contrast medium in color Doppler and power Doppler visualization of blood flow in canine kidneys. Acta Radiol. 38 (3): 445-453.
- ABU-YOUSEF, MM. 1992. Normal and respiratory variations of the hepatic and portal venous duplex Doppler waveforms with simultaneous electrocardiographic correlation. J Ultrasound Med. 11 (6): 263-268.
- ADACHI, K Y MAKIMURA, S. 1992. Changes in anti-erythrocyte membrane antibody level of dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*. J Vet Med Sci. 54 (6): 1221-1223.
- ADACHI, K; TATEISHI, M; HORII, Y; NAGATOMO, H; SHIMIZU, T Y MAKIMURA, S. 1994. Reactivity of serum anti-erythrocyte membrane antibody in *Babesia gibsoni*-infected dogs. J Vet Med Sci. 56 (5): 997-999.
- ADACHI, K; TATEISHI, M; HORII, Y; NAGATOMO, H; SHIMIZU, T Y MAKIMURA, S. 1995. Immunologic characteristics of anti-erythrocyte membrane antibody produced in dogs during *Babesia gibsoni* infection. J Vet Med Sci. 57 (1): 121-123.

- ADAMS, WH; TOAL, RL Y BREIDER, MA.** 1991. Ultrasonographic findings in dogs and cats with oxalate nephrosis attributed to ethylene glycol intoxication: 15 cases (1984-1988). *J Am Vet Med Assoc.* 199 (4): 492-496.
- ADASZEK, LK; WINIARCZYK, S Y SKRZYPCZAK, M.** 2009. The clinical course of babesiosis in 76 dogs infected with protozoan parasites *Babesia canis canis*. *Pol J Vet Sci.* 12 (1): 81-87.
- ADEYANJU, BJ Y ALIU, YO.** 1982. Chemotherapy of canine ehrlichiosis and babesiosis with imidocarb dipropionate. *J Am Anim Hosp Assoc.* 18 (3): 827-830.
- AGBENYEGA, T; ANGUS, BJ; BEDU-ADDO, G; BAFFOE-BONNIE, B; GUYTON, T; STACPOOLE, PW Y KRISHNA, S.** 2000. Glucose and lactate kinetics in children with severe malaria. *J Clin Endocrinol Metab.* 85 (4): 1569-1576.
- AKIHIRO, K; YUTAKA, Y; OSAMU, U; KAZUMI, K; JINTETSU, S Y TSUNEHARU, M.** 2001. Evaluation of reflux kidney using renal resistive index. *J Urol.* 165 (8): 2010-2012.
- ALMY, FS; CHRISTOPHER, MM; KING, DP Y BROWN, SA.** 2002. Evaluation of cystatin C as an endogenous marker of glomerular filtration rate in dogs. *J Vet Intern Med.* 16 (1): 45-51.
- ANDERSON, LJ Y FISHER, EW.** 1968. The blood pressure in canine interstitial nephritis. *Res Vet Sci.* 9 (4): 304-313.
- ANTOGNONI, MT; SIEPI, D; PORCIELLO, F Y FRUGANTI, G.** 2005. Use of serum cystatin C determination as a marker of renal function in the dog. *Vet Res Commun.* 29 (2): 265-267.
- ANTOGNONI, MT; SIEPI, D; PORCIELLO, F; RUECA, F Y FRUGANTI, G.** 2007. Serum cystatin-C evaluation in dogs affected by different diseases associated or not with renal insufficiency. *Vet Res Commun.* 31 (1): 269-271.
- ARGER, PH; SEHGAL, CM; PUGH, CR; KIRCHOFFER, JI; KOTLAR, EY Y BOVEE, KC.** 1999. Evaluation of change in blood flow by contrast-enhanced power Doppler imaging during norepinephrine-induced renal vasoconstriction. *J Ultrasound Med.* 18 (12): 843-851.
- ARTUNC, FH; FISCHER, IU; RISLER, T Y ERLEY, CM.** 2005. Improved estimation of GFR by serum cystatin C in patients undergoing cardiac catheterization. *Int J Cardiol.* 102 (2): 173-178.

- BABCOCK, DS; SLOVIS, TL; HAN, BK; MCENERY, P Y MCWILLIAMS, DR.** 1985. Renal transplants in children: long-term follow-up using sonography. *Radiology*. 156 (1): 165-167.
- BABES, V.** 1888. Sur l'hémoglobinurie bacterienne du oeuf. *C R Acad Sci*. 107: 692.
- BAILEY, MQ; WILLARD, MD; MCLOUGHLIN, MA; GABER, C Y HAUPTMAN, J.** 1988. Ultrasonographic findings associated with congenital hepatic arteriovenous fistula in three dogs. *J Am Vet Med Assoc*. 192 (8): 1099-1101.
- BALLEGEER, EA; FORREST, LJ; DICKINSON, RM; SCHUTTEN, MM; DELANEY, FA Y YOUNG, KM.** 2007. Correlation of ultrasonographic appearance of lesions and cytologic and histologic diagnoses in splenic aspirates from dogs and cats: 32 cases (2002-2005). *J Am Vet Med Assoc*. 230 (5): 690-696.
- BARIC RAFAJ, R; MRLJAK, V; GUELF, JF; MARINCULIC, A; POTOCNJAK, D; ZVORC, Z Y KUCER, N.** 2005. Nombre de plaquettes et volume moyen plaquettaire dans babésiose du chien. *Revue Méd Vét*. 156 (2): 95-98.
- BARKER, RN; GRUFFYDD-JONES, TJ; STOKES, CR Y ELSON, CJ.** 1992. Autoimmune haemolysis in the dog: relationship between anaemia and the levels of red blood cell bound immunoglobulins and complement measured by an enzyme-linked antiglobulin test. *Vet Immunol Immunopathol*. 34 (1-2): 1-20.
- BARKER, RN; GRUFFYDD-JONES, TJ Y ELSON, CJ.** 1993. Red cell-bound immunoglobulins and complement measured by an enzyme-linked antiglobulin test in dogs with autoimmune haemolysis or other anaemias. *Res Vet Sci*. 54 (2): 170-178.
- BARR, FJ; PATTESON, MW; LUCKE, VM Y GIBBS, C.** 1989. Hypercalcemic nephropathy in three dogs: sonographic appearance. *Vet Radiol*. 30 (4): 169-173.
- BARR, FJ.** 1999. Ecografía diagnóstica. En: Lee, R (ed.), *Manual de Diagnóstico por Imagen en Pequeños Animales*. Ediciones S, Barcelona (España). 197-209.
- BARTHEZ, PY; LÉVEILLÉ, R Y SCRIVANI, PV.** 1997. Side lobes and grating lobes artifacts in ultrasound imaging. *Vet Radiol Ultrasound*. 38 (5): 387-393.

- BARTON, L.** 2007. Sepsis y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), Tratado de medicina interna veterinaria. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 452-454.
- BECK, R; VOJTA, L; MRLJAK, V; MARINCULIĆ, A; BECK, A; ZIVICNJAK, T Y CACCIÒ, SM.** 2009. Diversity of *Babesia* and *Theileria* species in symptomatic and asymptomatic dogs in Croatia. Int J Parasitol. 39 (7): 843-848.
- BERGMAN, JR.** 1985. Nodular hyperplasia in the liver of the dog: an association with changes in the Ito cell population. Vet Pathol. 22 (5): 427-438.
- BERRY, CR; ACKERMAN, N; CHARACH, M Y LAWRENCE, D.** 1992. Iatrogenic biloma (biliary pseudocyst) in a cat with hepatic lipidosis. Vet Radiol. 33 (3): 145-149.
- BILLER, DS; KANTROWITZ, B Y MIYABAYASHI, T.** 1992. Ultrasonography of diffuse liver disease. A review. J Vet Intern Med. 6 (2): 71-76.
- BIRKENHEUER, AJ; LEVY, MG; SAVARY, KC; GAGER, RB Y BREITSCHWERDT, EB.** 1999. *Babesia gibsoni* infections in dogs from North Carolina. J Am Anim Hosp Assoc. 35 (2): 125-128.
- BIRKENHEUER, AJ; LEVY, MG Y BREITSCHWERDT, EB.** 2003a. Molecular characterization of a novel large piroplasm isolated from a dog. J Vet Intern Med. 17 (3): 381.
- BIRKENHEUER, AJ; LEVY, MG; STEBBINS, M; POORE, M Y BREITSCHWERDT, E.** 2003b. Serosurvey of anti*Babesia* antibodies in stray dogs and American pit bull terriers and American staffordshire terriers from North Carolina. J Am Anim Hosp Assoc. 39 (6): 551-557.
- BIRKENHEUER, AJ; GREENE, C; SILVER, S; LURIA, B; BROSEY, B; MILNER, R; OTTIE, M; LEVY, MG Y BREITSCHWERDT, EB.** 2003c. *Babesia gibsoni* infections in non-American pit bull terriers. J Vet Intern Med 17 (3): 380.
- BIRKENHEUER, AJ; LEVY, M; STEBBINS, M; POORE, M Y BREITHSCHWERDT, EB.** 2003d. Atovaquone and azithromycin combination therapy for the treatment of *Babesia gibsoni* infections in dogs. J Vet Intern Med 17 (3): 381.

- BIRKENHEUER, AJ; NEEL, J; RUSLANDER, D; LEVY, MG Y BREITSCHWERDT, EB.** 2004a. Detection and molecular characterization of a novel large *Babesia species* in a dog. *Vet Parasitol.* 124 (3-4): 151-160.
- BIRKENHEUER, AJ; LEVY, MG Y BREITSCHWERDT, EB.** 2004b. Efficacy of combined atovaquone and azithromycin for therapy of chronic *Babesia gibsoni* (Asian genotype) infections in dogs. *J Vet Intern Med.* 18 (4): 494-498.
- BIRKENHEUER, AJ; CORREA, MT; LEVY, MG Y BREITSCHWERDT, EB.** 2005. Geographic distribution of babesiosis among dogs in the United States and association with dog bites: 150 cases (2000-2003). *J Am Vet Med Assoc.* 227 (6): 942-947.
- BJÖRCK, L; GRUBB, A Y KJELLÉN, L.** 1990. Cystatin C, a human proteinase inhibitor, blocks replication of herpes simplex virus. *J Virol.* 64 (2): 941-943.
- BOBADE, PA; ODUYE, OO Y AGHOMO, HO.** 1989. Prevalence of antibodies against *Babesia canis* in dogs in an endemic area. *Rev Elev Med Vet Pays Trop.* 42 (2): 211-217.
- BODEY, AR; YOUNG, LE; BARTRAM, DH; DIAMOND, MJ Y MICHELL, AR.** 1994. A comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in anaesthetised dogs, using tail and limb cuffs. *Res Vet Sci.* 57 (3): 265-269.
- BODEY, AR Y MICHELL, AR.** 1996. Epidemiological study of blood pressure in domestic dogs. *J Small Anim Pract.* 37 (3): 116-125.
- BODEY, AR; MICHELL, AR; BOVEE, KC; BURANAKURL, C Y GARG, T.** 1996. Comparison of direct and indirect (oscillometric) measurements of arterial blood pressure in conscious dogs. *Res Vet Sci.* 61 (1): 17-21.
- BÖHM, M; LEISEWITZ, AL; THOMPSON, PN Y SCHOEMAN, JP.** 2006. Capillary and venous *Babesia canis rossi* parasitaemias and their association with outcome of infection and circulatory compromise. *Vet Parasitol.* 141 (1-2): 18-29.
- BOLONDI, L; GAIANI, S Y BARBARA, L.** 1999. Hígado e Hipertensión Portal. En: Taylor, KJ; Burns, PN y Wells, PN (eds.). *Doppler. Aplicaciones Clínicas de la Ecografía Doppler.* Segunda edición. Marban Libros, Madrid (España). 133-154.

- BOMMER, NX; SHAW, DJ; MILNE, EM Y RIDYARD AE.** 2008. Platelet distribution width and mean platelet volume in the interpretation of thrombocytopenia in dogs. *J Small Anim Pract.* 49 (10): 518-524.
- BONE, RC; BALK, RA; CERRA, FB; DELLINGER, RP; FEIN, AM; KNAUS, WA; SCHEIN, RM Y SIBBALD, WJ.** 1992. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. *Chest.* 101 (6): 1644-1655.
- BOOZER, AL Y MACINTIRE, DK.** 2003. Canine babesiosis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 33 (4): 885-904.
- BORK, S; YOKOYAMA, N; MATSUO, T; CLAVERIA, FG; FUJISAKI, K Y IGARASHI, I.** 2003a. Clotrimazole, ketoconazole, and clodinafop-propargyl as potent growth inhibitors of equine *Babesia* parasites during in vitro culture. *J Parasitol.* 89 (3): 604-606.
- BORK, S; YOKOYAMA, N; MATSUO, T; CLAVERIA, FG; FUJISAKI, K Y IGARASHI, I.** 2003b. Growth inhibitory effect of triclosan on equine and bovine *Babesia* parasites. *Am J Trop Med Hyg.* 68 (3): 334-340.
- BORK, S; YOKOYAMA, N; IKEHARA, Y; KUMAR, S; SUGIMOTO, C Y IGARASHI, I.** 2004. Growth-inhibitory effect of heparin on *Babesia* parasites. *Antimicrob Agents Chemother.* 48 (1): 236-241.
- BOURDEAU, P Y GUELF, JF.** 1995. La babésiose canine à *Babesia canis*. *Point Vét.* 27 (168): 103-116.
- BOURDOISEAU, G.** 2006. Canine babesiosis in France. *Vet Parasitol.* 138 (1-2): 118-125.
- BRADY, CA Y OTTO, CM.** 2001. Systemic inflammatory response syndrome, sepsis, and multiple organ dysfunction. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 31 (6): 1147-1162
- BRANDAO, LP; HAGIWARA, MK Y MYIASHIRO, SI.** 2003. Humoral immunity and reinfection resistance in dogs experimentally inoculated with *Babesia canis* and either treated or untreated with imidocarb dipropionate. *Vet Parasitol.* 114 (4): 253-265.
- BRAUN, JP; LEFEBVRE, HP Y WATSON, AD.** 2003. Creatinine in the dog: a review. *Vet Clin Pathol.* 32 (4): 162-179.

- BREITSCHWERDT, EB; MALONE, JB; MACWILLIAMS, P; LEVY, MG; QUALLS, CW JR Y PRUDICH, MJ.** 1983. Babesiosis in the Greyhound. *J Am Vet Med Assoc.* 182 (9): 978-982.
- BREITSCHWERDT, EB.** 1984. Babesiosis. En: Greene CE (ed.), *Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat.* WB Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 796-805.
- BROWN, JM; QUEDENS-CASE, C; ALDERMAN, JL; GREENER, Y Y TAYLOR, KJ.** 1997. Contrast enhanced sonography of visceral perfusion defects in dogs. *J Ultrasound Med.* 16 (7): 493-499.
- BROWN, SA Y HENIK, RA.** 1998. Diagnosis and treatment of systemic hypertension. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 28 (6): 1481-1494.
- BROWN, SA Y GRAUER, GF.** 2004. Enfermedades del riñón. En: Morgan, RV; Bright, RM y Swartout, MS (eds.), *Clínica de pequeños animales.* Cuarta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 500-528.
- BROWN, GK; CANFIELD, PJ; DUNSTAN, RH; ROBERTS, TK; MARTIN, AR; BROWN, CS Y IRVING, R.** 2006. Detection of *Anaplasma platys* and *Babesia canis vogeli* and their impact on platelet numbers in free-roaming dogs associated with remote Aboriginal communities in Australia. *Aust Vet J.* 84 (9): 321-325.
- BROWN, SA.** 2007. Fisiopatología de la hipertensión arterial sistémica. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), *Tratado de medicina interna veterinaria.* Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 472-476.
- BROWN, S; ATKINS, C; BAGLEY, R; CARR, A; COWGILL, L; DAVIDSON, M; EGNER, B; ELLIOTT, J; HENIK, R; LABATO, M; LITTMAN, M; POLZIN, D; ROSS, L; SNYDER, P Y STEPIEN, R.** 2007. Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *J Vet Intern Med.* 21 (3): 542-558.
- BRUM, DE Y MORGAN, RV.** 1999. Procedimientos terapéuticos y diagnósticos específicos. En: Morgan, RV. (ed.), *Clínica de pequeños animales.* Tomo I. Harcourt Brace, Madrid (España). 17-32.
- BRUNEEL, F; GACHOT, B; TIMSIT, JF; WOLFF, M; BÉDOS, JP; RÉGNIER, B Y VACHON, F.** 1997. Shock complicating severe falciparum malaria in European adults. *Intensive Care Med.* 23 (6): 698-701.

- BRZIN, J; POPOVIC, T; TURK, V; BORCHART, U Y MACHLEIDT, W.** 1984. Human cystatin, a new protein inhibitor of cysteine proteinases. *Biochem Biophys Res Commun.* 118 (1): 103-109.
- BURGENER, IA; KOVACEVIC, A; MAULDIN, GN Y LOMBARD, CW.** 2006. Cardiac troponins as indicators of acute myocardial damage in dogs. *J Vet Intern Med.* 20 (2): 277-283.
- BURK, RL Y FEENEY, DA.** 2003. *Small Animal Radiology and Ultrasonography. A diagnostic Atlas and Text.* Third edition. Saunders, St. Louis, Missouri (EE.UU.).
- BURNS, PN.** 1987. The physical principles of Doppler and spectral analysis. *J Clin Ultrasound.* 15 (9): 567-590.
- BURNS, PN.** 1999a. Interpretación y Análisis del Estudio Doppler. En: Taylor, KJ; Burns, PN y Wells, PN (eds.). *Doppler. Aplicaciones Clínicas de la Ecografía Doppler.* Segunda edición. Marban Libros, Madrid (España). 55-98.
- BURNS, PN.** 1999b. Hemodinámica. En: Taylor, KJ; Burns, PN y Wells, PN (eds.). *Doppler. Aplicaciones Clínicas de la Ecografía Doppler.* Segunda edición. Marban Libros, Madrid (España). 35-53.
- BUSH, BM.** 1999. Bioquímica sanguínea. En: Bush, BM. (ed.), *Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales.* Ediciones S, Barcelona (España). 257-480.
- BUTTERY, B Y DAVISON, G.** 1984. The ghost artifact. *J Ultrasound Med.* 3 (2): 49-52.
- BUTTON, C.** 1976. Fluid therapy in canine babesiosis. *J S Afr Vet Assoc.* 47 (4): 284-287.
- BUTTON, C.** 1979. Metabolic and electrolyte disturbances in acute canine babesiosis. *J Am Vet Med Assoc.* 175 (5): 475-479.
- CABANNES, A; PELSE, H; LUCCHESI, F Y APPRIOU, M.** 2002. Séroprévalence de la babésiose canine dans le Sud-Ouest de la France. *Rev Méd Vét.* 153 (1): 27-28.
- CACCIO, SM; ANTUNOVIC, B; MORETTI, A; MANGILI, V; MARINCULIC, A; BARIC, RR; SLEMENDA, SB Y PIENIAZEK, NJ.** 2002. Molecular characterisation of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* from naturally infected European dogs. *Vet Parasitol.* 106 (4): 285-292.

- CAMACHO, AT; PALLAS, E; GESTAL, JJ; GUITIAN, EJ; OLMEDA, AS; GOETHERT, HK Y TELFORD, SR 3RD. 2001. Infection of dogs in north-west Spain with a *Babesia microti*-like agent. Vet Rec. 149 (18): 552-555.
- CAMACHO, AT; PALLAS, E; GESTAL, JJ; GUITIAN, EJ; OLMEDA, AS; TELFORD, SR 3RD Y SPIELMAN, A. 2003. *Ixodes hexagonus* is the main candidate as vector of *Theileria annae* in northwest Spain. Vet Parasitol. 112 (1-2): 157-163.
- CAMACHO, AT; DÍEZ, E; VALCÁRCEL, F; MARTIN, R; CASADO, MA Y OLMEDA, AS. 2004a. Babesiosis canina. Canis et Felis. (68): 33-50.
- CAMACHO, AT; GUITIAN, EJ; PALLAS, E; GESTAL, JJ; OLMEDA, AS; GOETHERT, HK; TELFORD, SR 3RD Y SPIELMAN, A. 2004b. Azotemia and mortality among *Babesia microti*-like infected dogs. J Vet Intern Med. 18 (2): 141-146.
- CAMACHO, AT. 2005. Do eosinophils have a role in the severity of *Babesia annae* infection?. Vet Parasitol. 134 (3-4): 281-282.
- CAMACHO, AT; GUITIAN, EJ; PALLAS, E; GESTAL, JJ; OLMEDA, AS; GOETHERT, HK; TELFORD, SR 3RD Y SPIELMAN, A. 2005. Serum protein response and renal failure in canine *Babesia annae* infection. Vet Res. 36 (5-6): 713-722.
- CAMACHO, AT. 2006. Piroplasma infection in dogs in northern Spain. Veterinary Parasitology. 138 (1-2): 97-102.
- CAMACHO, J. 2000. Estadística con SPSS para Windows. Ra-Ma, Madrid.
- CARDOSO, L; COSTA, A; TUNA, J; VIEIRA, L; EYAL, O; YISASCHAR-MEKUZAS, Y Y BANETH, G. 2008. *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* infections in dogs from northern Portugal. Vet Parasitol. 156 (3-4): 199-204.
- CARLI, E; TASCA, S; TROTTA, M; FURLANELLO, T; CALDIN, M Y SOLANO-GALLEG0, L. 2009. Detection of erythrocyte binding IgM and IgG by flow cytometry in sick dogs with *Babesia canis canis* or *Babesia canis vogeli* infection. Vet Parasitol. 162 (1-2): 51-57.

- CARRET, C; WALAS, F; CARCY, B; GRANDE, N; PRÉCIGOUT, E; MOUBRI, K; SCHETTERS, TP Y GORENFILOT, A. 1999. *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli*, *Babesia canis rossi*: differentiation of the three subspecies by a restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. J Eukaryot Microbiol. 46 (3): 298-303.
- CARTEE, RE; SELCER, BA Y PATTON, CS. 1980. Ultrasonographic diagnosis of renal disease in small animals. J Am Vet Med Assoc. 176 (5): 426-430.
- CASADO, MA; BENAVENTE, A; VALCÁRCEL, F; MIRÓ, G; MARTÍN, R; DíEZ, E; CAMACHO, AT Y OLMEDA, AS. 2004. Infestación por garrapatas en perros en España. Canis et Felis. (68): 13-31.
- CASTRO, M Y AYUSO, E. 2003. Abdomen digestivo. En Pérez, B (ed.), Tratamiento del dolor. Patologías que cursan con dolor en el perro y en el gato. Boehringer Ingelheim, Barcelona. 107-165.
- CENTENO-LIMA, S; DO ROSARIO, V; PARREIRA, R; MAIA, AJ; FREUDENTHAL, AM; NIJHOF, AM Y JONGEJAN, F. 2003. A fatal case of human babesiosis in Portugal: molecular and phylogenetic analysis. Trop Med Int Health. 8 (8): 760-764.
- CENTER, SA. 1996. Diagnostic procedures for evaluation of hepatic disease. En Guilford, WG; Center, SA; Strombeck, DR; Williams, DA y Meyer, DJ (eds.), Small animal gastroenterology. WB Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 130-188.
- CERON, JJ; ECKERSALL, PD Y MARTYNEZ-SUBIELA, S. 2005. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. Vet Clin Pathol. 34 (2): 85-99.
- CHALIFOUX, A; DALLAIRE, A; BLAIS, D; LARIVIERE, N Y PELLETIER, N. 1985. Evaluation of the arterial blood pressure of dogs by two non-invasive methods. Can J Comp Med. 49 (4): 419-423.
- CHAUDHURI, S Y VARSHNEY, JP. 2007. Clinical management of babesiosis in dogs with homeopathic *Crotalus horridus* 200C. Homeopathy. 96 (2): 90-94.

- CHOI, H; WON, S; CHUNG, W; LEE, K; CHANG, D; LEE, H; EOM, K; LEE, Y Y YOON, J.** 2003. Effect of intravenous mannitol upon the resistive index in complete unilateral renal obstruction in dogs. *J Vet Intern Med.* 17 (2): 1558-1562.
- CHRISTENSSON, AG; GRUBB, AO; NILSSON, JA; NORRGREN, K; STERNER, G Y SUNDKVIST, G.** 2004. Serum cystatin C advantageous compared with serum creatinine in the detection of mild but not severe diabetic nephropathy. *J Intern Med.* 256 (6): 510-518.
- CLARK, IA Y JACOBSON, LS.** 1998. Do babesiosis and malaria share a common disease process? *Ann Trop Med Parasitol.* 92 (4): 483-488.
- COHN, LA; SPAULDING, KA; CULLEN, JM; BUNCH, SE; METCALF, MR; HARDIE, EM; MACLACHLAN, NJ Y BREITSCHWERDT, EB.** 1991. Intrahepatic postsinusoidal venous obstruction in a dog. *J Vet Intern Med.* 5 (6): 317-321.
- COLLINS, AR Y GRUBB, A.** 1991. Inhibitory effects of recombinant human cystatin C on human coronaviruses. *Antimicrob Agents Chemother.* 35 (11): 2444-2446.
- CONRAD, P; THOMFORD, J; YAMANE, I; WHITING, J; BOSMA, L; UNO, T; HOLSHUH, HJ Y SHELLY, S.** 1991. Haemolytic anemia caused by *Babesia gibsoni* infection in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 199 (5): 601-605.
- COSTA-JÚNIOR, LM; RIBEIRO, MF; REMBECK, K; RABELO, EM; ZAHLER-RINDER, M; HIRZMANN, J; PFISTER, K Y PASSOS, LM.** 2008. Canine babesiosis caused by *Babesia canis vogeli* in rural areas of the State of Minas Gerais, Brazil and factors associated with its seroprevalence. *Res Vet Sci.* 86 (2): 257-260.
- COULTER, DB; WHELAN, SC; WILSON, RC Y GOETSCH, DD.** 1981. Determination of blood pressure by indirect methods in dogs given acetylpromazine maleate. *Cornell Vet.* 71 (1): 75-84.
- COULTER, DB Y KEITH, JC.** 1984. Blood pressures obtained by indirect measurement in conscious dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 184 (11): 1375-1378.
- COUTO, CG.** 2009. Hematology. En: Nelson, RW y Couto, CG (eds.), *Small animal internal medicine.* Fourth edition. Mosby Elsevier, Philadelphia (EE.UU.). 1209-1280.

- COWGILL, LD Y FRANCEY, T.** 2007. Uremia aguda. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), Tratado de medicina interna veterinaria. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 1731-1751.
- COWGILL, LD Y KALLET, AJ.** 1963. Recognition and management of hypertension in the dog. En: Kirk, RW (ed.). Current Veterinary Therapy VIII, WB Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 1025-1028.
- CRIADO-FORNELIO, A; GONZALEZ-DEL-RIO, MA; BULING-SARANA, A Y BARBA-CARRETERO, JC.** 2003a. Molecular characterization of a *Babesia gibsoni* isolate from a Spanish dog. Vet Parasitol. 117 (1-2): 123-129.
- CRIADO-FORNELIO, A; MARTINEZ-MARCOS, A; BULING-SARANA, A Y BARBA-CARRETERO, JC.** 2003b. Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe. Part I. Epizootiological aspects. Vet Parasitol. 113 (3-4): 189-201.
- CRIADO-FORNELIO, A; REY-VALEIRON, C; BULING, A; BARBA-CARRETERO, JC; JEFFERIES, R E IRWIN, P.** 2007. New advances in molecular epizootiology of canine hematic protozoa from Venezuela, Thailand and Spain. Vet Parasitol. 144 (3-4): 261-269.
- CRIADO-FORNELIO, A; BULING, A; PINGRET, JL; ETIEVANT, M; BOUCRAUT-BARALON, C; ALONGI, A; AGNONE, A Y TORINA, A.** 2008. Hemoprotezoa of domestic animals in France: Prevalence and molecular characterization. Vet Parasitol. 159 (1): 73-76.
- CROWE, DT Y SPRENG, DE.** 1997. Valoración Doppler del flujo sanguíneo y la presión arterial en pacientes quirúrgicos y en cuidado crítico. En: Bonagura, J y Kirk, R (eds.), Terapéutica veterinaria de pequeños animales. McGraw-Hill-Interamericana. México, D.F. (México). 125-129.
- CROWE, DT.** 2008. Blood pressure and HDO analysis in critical care and emergencies. 18th ECVIM-CA Congress. Ghent (Bélgica).
- DACEY, MJ; MARTINEZ, H; RAIMONDO, T; BROWN, C Y BRADY, J.** 2001. Septic shock due to babesiosis. Clin Infect Dis. 33 (5): 37-38.
- DANTAS-TORRES, F Y FIGUEREDO, LA.** 2006. Canine babesiosis: a Brazilian perspective. Vet Parasitol. 141 (3-4): 197-203.

- DAY, MJ.** 1999. Antigen specificity in canine autoimmune hemolytic anemia. *Vet Immunol Immunopathol.* 69 (2-4): 215-224.
- DAY, MJ.** 2000. Immune-mediated hemolytic anemia. En: Feldman, BF; Zinkl, JG y Jain, NC (eds.), *Schalm's Veterinary Hematology*. Fifth edition. Lippincott, Williams & Wilkins. Philadelphia (EE.UU.). 795-806.
- DE SCALLY, MP; LOBETTI, RG; REYERS, F Y HUMPHRIS, D.** 2004. Are urea and creatinine values reliable indicators of azotaemia in canine babesiosis? *J S Afr Vet Assoc.* 75 (3): 121-124.
- DE SCALLY, MP; LEISEWITZ, AL; LOBETTI, RG Y THOMPSON, PN.** 2006. The elevated serum urea:creatinine ratio in canine babesiosis in South Africa is not of renal origin. *J S Afr Vet Assoc.* 77 (4): 175-178.
- DEVEY, J.** 2003. Técnicas Invasivas Utilizadas en Urgencias y Cuidados Intensivos. XX Congreso Anual de la Asociación Madrileña de Animales de Compañía (AMVAC): "Medicina y cirugía de atención inmediata". Madrid (España). 52-53.
- DiBARTOLA, SP.** 2007. Nefropatías: abordaje clínico y evaluación de laboratorio. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), *Tratado de medicina interna veterinaria*. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 1716-1731.
- DODD, GD; KAUFMAN, PN Y BRACKEN, RB.** 1991. Renal arterial duplex Doppler ultrasound in dogs with urinary obstruction. *J Urol.* 145 (3): 644-646.
- DROST, WT.** 2007. Basic Ultrasound Physics. En: Thrall, DE (ed.). *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology*. Fifth edition. Saunders Elsevier, Philadelphia (EE.UU.). 38-49.
- DUARTE, SC; LINHARES, GF; ROMANOWSKY, TN; NETO, OJ Y BORGES, LM.** 2008. Assessment of primers designed for the subspecies-specific discrimination among *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli* and *Babesia canis rossii* by PCR assay. *Vet Parasitol.* 152 (1-2): 16-20.
- DUBBINS, PA.** 1980. Ultrasound in the diagnosis of splenic abscess. *Br J Radiol.* 53 (629): 488-489.
- DUFORT, RM Y MATROS, L.** 2007. Coagulopatías adquiridas. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), *Tratado de medicina interna veterinaria*. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 1933-1937.

- DUH, D; TOZON, N; PETROVEC, M; STRASEK, K Y AVSIC-ZUPANC T.** 2004. Canine babesiosis in Slovenia: molecular evidence of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli*. Vet Res. 35 (3): 363-368.
- DUH, D; PETROVEC, M Y AVSIC-ZUPANC, T.** 2005. Molecular characterization of human pathogen *Babesia* EU1 in *Ixodes ricinus* ticks from Slovenia. J Parasitol. 91 (2): 463-465.
- DVIR, E; LOBETTI, RG; JACOBSON, LS; PEARSON, J Y BECKER, PJ.** 2004. Electrocardiographic changes and cardiac pathology in canine babesiosis. J Vet Cardiol. 6 (1): 15-23.
- EBERHARD, ML; WALKER, EM Y STEURER, FJ.** 1995. Survival and infectivity of *Babesia* in blood maintained at 25 °C and 2-4 °C. J Parasitol. 81 (5): 790-792.
- EDDLESTONE, S; TABOADA, J; SENIOR, D Y PAULSEN, DB.** 1999. Renal haemangioma in a dog. J Small Anim Pract. 40 (3): 132-135.
- EIRAS, DF; BASABE, J; MESPLET, M Y SCHNITTGER, L.** 2008. First molecular characterization of *Babesia vogeli* in two naturally infected dogs of Buenos Aires, Argentina. Vet Parasitol. 157 (3-4): 294-298.
- ELLISON, GW; KING, RR Y CALDERWOOD-MAYS, M.** 1988. Medical and surgical management of multiple organ infarctions secondary to bacterial endocarditis in a dog. J Am Vet Med Assoc. 193 (10): 1289-1291.
- ENCINAS GRANDES, A; OLEADA PÉREZ, A Y PÉREZ SÁNCHEZ, R.** 1999. Garrapatas duras. En: Cordero-del-Campillo, M; Rojo-Vázquez, FA. (eds.), Parasitología Veterinaria. McGraw Hill-Interamericana, Madrid (España). 420-429.
- ENGELKING, LR Y SAWKAT-ANWER, M.** 1999. Mecanismos fisiopatológicos y complicaciones metabólicas. Hígado y árbol biliar. En: Anderson, NV (ed.), Gastroenterología Veterinaria. Segunda edición. Inter-Médica, Buenos Aires (Argentina). 195-253.
- ERHARDT, W; HENKE, L Y CARR, A.** 2003. Causes and Consequences of Hypotension. En: Egner, B; Carr, A; Brown, S (eds.), Essential Facts of Blood Pressure in Dogs and Cats. Third edition. Lifelearn (Alemania). 87-101.

- FARROW, CS.** 1996. How Ultrasound Works. En: Green, RW (ed.). Small Animal Ultrasound. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia (EE.UU.). 7-28.
- FARWELL, GE; LEGRAND, EK Y COBB, CC.** 1982. Clinical observations on *Babesia gibsoni* and *Babesia canis* infections in dogs. J Am Vet Med Assoc. 180 (5): 507-511.
- FEENEY, DA; ANDERSON, KL; ZIEGLER, LE; JESSEN, CR; DAUBS, BM Y HARDY, RM.** 2008. Statistical relevance of ultrasonographic criteria in the assessment of diffuse liver disease in dogs and cats. Am J Vet Res. 69 (2): 212-221.
- FELDMAN, BF.** 2007. Anemias no regenerativas. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), Tratado de medicina interna veterinaria. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 1908-1917.
- FINCO, DR; STILES, NS; KNELLER, SK; LEWIS, RE Y BARRETT, RB.** 1971. Radiologic estimation of kidney size of the dog. J Am Vet Med Assoc. 159 (8): 995-1002.
- FISKE, CE Y FILLY, RA.** 1982. Pseudo-sludge: A spurious ultrasound appearance within the gallbladder. Radiology. 144 (3): 631-632.
- FÖLDEVÁRI, G; HELL, E Y FARKAS, R.** 2005. *Babesia canis canis* in dogs from Hungary: detection by PCR and sequencing. Vet Parasitol. 127 (3-4): 221-226.
- FOLEY, WD Y ERICKSON, SJ.** 1991. Color Doppler flow imaging. AJR Am J Roentgenol. 156 (1): 3-13.
- FRAGA, E; FRAGA, G; FIDALGO, LE; BARREIRO, A; RODRÍGUEZ, MI Y GOICOA, A.** 2006. Relación de la presión arterial con el fallo renal y hepático en la babesiosis anina. XI Congreso Nacional y I Internacional de la Sociedad Española de Medicina Interna Veterinaria. Córdoba (España).
- FRAGA, E; SUÁREZ, ML; FRAGA, G; FIDALGO, LE; LÓPEZ, A Y GOICOA, A.** 2007a. Estudio de la presión arterial en perros diagnosticados de *Babesia canis*. Rev ele clin vet. 2 (1-4).
- FRAGA, E; GOICOA, A; FRAGA, G; SEOANE, A Y BARREIRO, A.** 2007b. Abdominal ultrasonographic findings in 38 dogs with babesiosis (*Babesia canis canis*). Vet Radiol Ultrasound. 49 (2): 211.

- FRAGA, E; FIDALGO, LE; ESPINO, L; FRAGA, G; CARRERA, C; SEOANE, A Y GOICOA, A.** 2007c. Study of the blood pressure and the renal resistive indices in dogs naturally infected with *Babesia canis canis*. 17th European College of Veterinary Internal Medicine - Companion Animals Congress and the 9th European Society of Veterinary Clinical Pathology Congress. Budapest (Hungria).
- FRAGA, E; BARREIRO, D; GARCÍA, J; FIDALGO, LE Y ESPINO, L.** 2008a. Efusión pleural asociada con babesiosis canina: A propósito de un caso clínico. 2nd Southern European Veterinarian Conference y 43 Congreso Nacional de AVEPA. Barcelona (España).
- FRAGA, E; RUIZ DE GOPEGUI, A; GOICOA, A; FRAGA, G; GARCÍA, J Y ESPINO, L.** 2008b. Differential leukocyte count in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* in dogs with leukopenia. 18th European College of Veterinary Internal Medicine - Companion Animals Congress. Gante (Bélgica).
- FRAGA, E; ESPINO, L; BARREIRO, A; GOICOA, A Y BARREIRO, D.** 2008c. Valoración ecográfica del daño renal provocado por la babesiosis canina. 2nd Southern European Veterinarian Conference y 43 Congreso Nacional de AVEPA. Barcelona (España).
- FRAGA, E; GOICOA, A; FRAGA, G; BARREIRO, A; MIÑO, N Y ESPINO, L.** 2009. Evaluation of platelet count and its association with plateletcrit, mean platelet volume, and platelet size distribution width in canine babesiosis. 19th European College of Veterinary Internal Medicine - Companion Animals Congress. Porto (Portugal).
- FREEMAN, MJ; KIRBY, BM; PANCIERA, DL; HENIK, RA; ROSIN, E Y SULLIVAN, LJ.** 1994. Hypotensive shock syndrome associated with acute *Babesia canis* infection in a dog. J Am Vet Med Assoc. 204 (1): 94-96.
- FREUNDLICH, JJ; DETWEILER, DK Y HANCE, HE.** 1972. Indirect blood pressure determination by the ultrasonic Doppler technique in dogs. Curr Ther Res Clin Exp. 14 (2): 73-80.
- FRIEDHOFF, KT.** 1988. Transmission of *Babesia*. En: Ristic, M (ed.), Babesiosis of domestic animals and man. CRC Press, Boca Raton, Florida (EE.UU.). 23-52.
- FRITSCH, R Y GERWING, M.** 1996. Fundamentos físicos y técnicos de la ecografía (Parte general). En: Fritsch, R y Gerwing, M (eds.), Ecografía de perros y gatos. Acirbia, Zaragoza (España). 3-34.

- FRITZ, D.** 2008. A PCR study of species and subtypes of *Babesia/Theileria* in 166 dogs and 111 horses in France (March 2006 to March 2008). 13th ISACP, 10th ESVCP, 8th AECCP and 7th APP Congress. Barcelona (España).
- FUENTES, VL.** 2004. Estudio y tratamiento de la hipertensión sistémica. XXI Congreso Anual de la Asociación Madrileña de Animales de Compañía (AMVAC): "Medicina y cirugía en geriatría". Madrid (España).
- FUKUMOTO, S; XUAN, X; SHIGENO, S; KIMBITA, E; IGARASHI, I; NAGASAWA, H; FUJISAKI, K Y MIKAMI, T.** 2001. Development of a polymerase chain reaction method for diagnosing *Babesia gibsoni* infection in dogs. J Vet Med Sci. 63 (9): 977-981.
- FUKUMOTO, S; SUZUKI, H; IGARASHI, I Y XUAN, X.** 2005. Fatal experimental transplacental *Babesia gibsoni* infections in dogs. Int J Parasitol. 35 (9): 1031-1035.
- FURLANELLO, T; FIORIO, F; CALDIN, M; LUBAS, G Y SOLANO-GALLEG0, L.** 2005. Clinicopathological findings in naturally occurring cases of babesiosis caused by large form *Babesia* from dogs of north-eastern Italy. Vet Parasitol. 134 (1-2): 77-85.
- GABAY, C Y KUSHNER, I.** 1999. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. N Engl J Med. 340 (6): 448-454.
- GAGNE, JM; ARMSTRONG, PJ; WEISS, DJ; LUND, EM; FEENEY, DA Y KING, VL.** 1999. Clinical features of inflammatory liver disease in cats: 41 cases (1983-1993). J Am Vet Med Assoc. 214 (4): 513-516.
- GALESIĆ, K; BRKLJACIĆ, B; SABLJAR-MATOVINOVIĆ, M; MOROVIĆ-VERGLES, J; CVITKOVIĆ-KUZMIĆ, A Y BOZIKOV, V.** 2000. Renal vascular resistance in essential hypertension: duplex-Doppler ultrasonographic evaluation. Angiology. 51 (8): 667-675.
- GARDNER, FI; CLARK, RN Y KOZLOWSKI, R.** 1980. A model of hepatic mirror-image artifact. Med Ultrasound 4 (2): 19-21.
- GARY, RJ.** 1995. Diagnostic imaging of the urinary tract. En: Osborne, CA y Finco, DR (eds.), Canine and Feline Nephrology and Urology. First edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (EE. UU.): 230-246.

- GASCHEN, L; AUDET, M; MENNINGER, K Y SCHUURMAN, HJ.** 2001. Ultrasonographic findings of functioning renal allografts in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *J Med Primatol.* 30 (1): 46-55.
- GEDDES, LA; COMBS, W; DENTON, W; WHISTLER, SJ Y BOURLAND, JD.** 1980. Indirect mean arterial pressure in the anesthetized dog. *Am J Physiol.* 238 (5): 664-666.
- GERBES,AL; GÜLBERG, V; BILZER, M Y VOGESER, M.** 2002. Evaluation of serum cystatin C concentration as a marker of renal function in patients with cirrhosis of the liver. *Gut.* 50 (1): 106-110.
- GERRITSEN, JG Y VAN DER ZWAN, JC.** 1992. Acute renal failure in severe chloroquine resistant falciparum malaria. *Intensive Care Med.* 18 (3): 177-179.
- GERWING, M.** 1996. Técnica de exploración especial y representación de órganos (Parte especial). En: Fritsch, R y Gerwing, M (eds.), *Ecografía de perros y gatos*. Acribia, Zaragoza (España). 3-34.
- GIGER, U.** 2007. Anemias regenerativas provocadas por hemorragia o hemólisis. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), *Tratado de medicina interna veterinaria*. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 1886-1907.
- GODSHALK, CP; BADERTSCHER, RR; RIPPY, MK Y GHENT, AW.** 1988. Quantitative ultrasonic assessment of liver size in the dog. *Vet Radiol.* 29 (4): 162-167.
- GOERG, C Y SCHWERK, WB.** 1990. Splenic infarction: sonographic patterns, diagnosis, follow-up, and complications. *Radiology.* 174 (3): 803-807.
- GOETHERT, HK Y TELFORD, SR 3RD.** 2003. What is *Babesia microti*? *Parasitology.* 127 (4): 301-309.
- GOICOA, A; DíEZ, P; CASTILLO, C Y SANTAMARINA, G.** 1992. Natural infection by *Babesia canis*: Serum electrophoretical findings. 17 Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA). Roma (Italia).
- GOICOA, A; SUÁREZ, C; SUÁREZ, ML; SANTAMARINA, G; ESPINO, L Y DíEZ, P.** 1999a. Estudio comparativo de la babesiosis canina según la aptitud, edad y sexo de los perros enfermos. Congreso de Medicina Interna Veterinaria SEMIV 99. Cáceres (España).

- GOICOA, A; SUÁREZ, C; SANTAMARINA, G; SUÁREZ, ML; FIDALGO, LE Y MORRONDO, P.** 1999b. Valoración de la serie roja y plaquetas en función del cuadro clínico en perros con *Babesia canis*. Congreso de Medicina Interna Veterinaria SEMIV 99. Cáceres (España).
- GOICOA, A; ESPINO, L; GONZÁLEZ, JR, SANTAMARINA, G Y SUÁREZ, ML.** 2002. Comparative response of two treatments for canine babesiosis. 27 Congress of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA). Granada (España).
- GOLDSTEIN, A Y MADRAZO, BL.** 1981. Slice-thickness artifacts in gray-scale ultrasound. J Clin Ultrasound. 9 (7): 365-375.
- GORENFLOT, A; MOUBRI, K; PRECIGOUT, E; CARCY, B Y SCHETTERS, TP.** 1998. Human babesiosis. Ann Trop Med Parasitol. 92 (4): 489-501.
- GORKA, W; GORKA, TS Y LEWALL, DB.** 1998. Doppler ultrasound evaluation of advanced portal vein pulsatility in patients with normal echocardiograms. Eur J Ultrasound. 8 (2): 119-123.
- GORKA, TS Y GORKA, W.** 1999. Doppler sonographic diagnosis of severe portal vein pulsatility in constrictive pericarditis: Flow normalization after pericardiectomy. J Clin Ultrasound. 27 (2): 84-88.
- GOTTLIEB, RH; LUHMANN, K Y OATES, RP.** 1989. Duplex ultrasound evaluation of normal native kidneys and native kidneys with urinary tract obstruction. J Ultrasound Med. 8 (11): 609-611.
- GRAY, JS.** 2006. Identity of the causal agents of human babesiosis in Europe. Int J Med Microbiol. 296 (1): 131-136.
- GREEN, RW.** 1996a. The Veterinarian and Ultrasound. En: Green, RW (ed.). Small Animal Ultrasound. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia (EE.UU.). 197-210.
- GREEN, RW.** 1996b. Kidneys. En: Green, RW (ed.). Small Animal Ultrasound. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia. (EE.UU.). 1-6.
- GROSENBAUGH, DA Y MUIR, WW.** 1998. Blood pressure monitoring. Vet Med. 93 (2): 48-59.
- GRUBB, A; SIMONSEN, O; STURFELT, G; TRUEDSSON, L Y THYSELL, H.** 1985. Serum concentration of cystatin C, factor D and beta 2-microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. Acta Med Scand. 218 (5): 499-503.

- GRUYS, E; TOUSSAINT, MJ; NIEWOLD, TA Y KOOPMANS, SJ.** 2005. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B.* 6 (11): 1045-1056.
- GUITIAN, FJ; CAMACHO, AT Y TELFORD, SR 3RD.** 2003. Case-control study of canine infection by a newly recognised *Babesia microti*-like piroplasm. *Prev Vet Med.* 61 (2): 137-145.
- GÜLANBER, A; GORENLOT, A; SCHETTERS, TP Y CARCY, B.** 2006. First molecular diagnosis of *Babesia vogeli* in domestic dogs from Turkey. *Vet Parasitol.* 139 (1-3): 224-230.
- HALL, A; HAKANSSON, K; MASON, RW; GRUBB, A Y ABRAHAMSON, M.** 1995. Structural basis for the biological specificity of cystatin C. Identification of leucine 9 in the N-terminal binding region as a selectivity-conferring residue in the inhibition of mammalian cysteine peptidases. *J Biol Chem.* 270 (10): 5115-5121.
- HALL, JA.** 2004. Enfermedades del páncreas exocrino. En: Morgan, RV; Bright, RM y Swartout, MS (eds.), *Clínica de pequeños animales.* Cuarta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 408-423.
- HAMLIN, RL; KITTLESON, MD; RICE, D; KNOWLEN, G Y SEYFFERT, R.** 1982. Non-invasive measurement of systemic arterial pressure in dogs by automatic sphygmomanometry. *Am J Vet Res.* 43 (7): 1271-1273.
- HAMMER, AS Y LARUE, S.** 1995. Tumors of the urinary tract. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.). *Textbook of Veterinary Internal Medicine, Diseases of the Dog and Cat.* Fourth edition. WB Saunders, Philadelphia: 1788-1795.
- HAN, BK Y BABCOCK, DS.** 1985. Sonographic measurements and appearance of normal kidneys in children. *AJR Am J Roentgenol.* 145 (3):611-616.
- HANSEN, B.** 1997. Medición de la presión arterial. En: Bonagura, J y Kirk, R (eds.). *Terapéutica veterinaria de pequeños animales.* McGraw-Hill-Interamericana. México, D.F. (México). 122-124.
- HANSON, JA Y PENNINCK, DG.** 1994. Ultrasonographic evaluation of a traumatic splenic haematoma and literature review. *Vet Radiol Ultrasound.* 35 (6): 463-466.

- HARDIE, EM; VADEN, SL; SPAULDING, K Y MALARKEY, DE.** 1995. Splenic infarction in 16 dogs: a retrospective study. *J Vet Intern Med.* 9 (3): 141-148.
- HARTELT, K; RIEKER, T; OEHME, RM; BROCKMANN, SO; MULLER, W Y DORN, N.** 2007. First Evidence of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) in Dogs in Western Europe. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 7 (2): 163-166.
- HARVEY, JW; TABOAADA, J Y LEWIS, JC.** 1988. Babesiosis in a litter of pups. *J Am Vet Med Assoc* 192 (12):1751-1752.
- HÄSELBARTH, K; TENTER, AM; BRADE, V; KRIEGER, G Y HUNFELD, KP.** 2007. First case of human babesiosis in Germany - Clinical presentation and molecular characterisation of the pathogen. *Int J Med Microbiol.* 297 (3): 197-204.
- HASSLER, CR; LUTZ, GA; LINEBAUGH, R Y CUMMINGS, KD.** 1979. Identification and evaluation of non-invasive blood pressure measuring techniques. *Toxicol Appl Pharmacol.* 47 (2): 193-201.
- HAUSCHILD, S Y SCHEIN, E.** 1996. The subspecies specificity of *Babesia canis*. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 109 (6-7): 216-219.
- HERGET-ROSENTHAL, S; TRABOLD, S; PIETRUCK, F; HOLTMANN, M; PHILIPP, T Y KRIBBEN, A.** 2000. Cystatin C: efficacy as screening test for reduced glomerular filtration rate. *Am J Nephrol.* 20 (2): 97-102.
- HERGET-ROSENTHAL, S; MARGGRAF, G; HÜSING, J; GÖRING, F; PIETRUCK, F; JANSSEN, O; PHILIPP, T Y KRIBBEN, A.** 2004. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int.* 66 (3): 1115-1122.
- HERRING, DS Y BJORNTON, G.** 1985. Physics, facts, and artifacts of diagnostic ultrasound. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 15 (6): 1107-1122.
- HERWALDT, BL; NEITZEL, DF; GORLIN, JB; JENSEN, KA; PERRY, EH; PEGLOW, WR; SLEMENDA, SB; WON, KY; NACE, EK; PIENIAZEK, NJ Y WILSON, M.** 2002. Transmission of *Babesia microti* in Minnesota through four blood donations from the same donor over a 6-month period. *Transfusion.* 42 (9): 1154-1158.

- HERWALDT, BL; CACCIO, S; GHERLINZONI, F; ASPOCK, H; SLEMENDA, SB; PICCALUGA, P; MARTINELLI, G; EDELHOFER, R; HOLLENSTEIN, U; POLETTI, G; PAMPIGLIONE, S; LOSCHENBERGER, K; TURA, S Y PIENIAZEK, NJ.** 2003. Molecular characterization of a non-*Babesia divergens* organism causing zoonotic babesiosis in Europe. *Emerg Infect Dis.* 9 (8): 942-948.
- HEYMAN, P; DUH, D; VAN DER KUYLEN, B; COCHEZ, C; VAN ESBROECK, M; VANDENVELDE, C Y AVSIC-ZUPANC, T.** 2007. Molecular and serological evidence for *Anaplasma platys* and *Babesia sp.* infection in a dog, imported in Belgium, from Southern Spain. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 54 (5): 276-279.
- HILBORN, MD; BUDE, RO; MURPHY, KJ; PLATT, JF Y RUBIN, JM.** 1997. Renal transplant evaluation with power Doppler sonography. *Br J Radiol.* 70 (1): 39-42.
- HILDEBRANDT, A; HUNFELD, KP; BAIER, M; KRUMBHOLZ, A; SACHSE, S; LORENZEN, T; KIEHNTOPF, M; FRICKE, HJ Y STRAUBE, E.** 2007. First confirmed autochthonous case of human *Babesia microti* infection in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 26 (8): 595-601.
- HILLMAN, RS Y FINCH, CA.** 1985. Red Cell Manual. Fifth edition. FA Davis, Philadelphia (EE.UU.).
- HOJS, R; BEVC, S; EKART, R; GORENJAK, M Y PUKLAVEC, L.** 2006. Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function in patients with mild to moderate impairment of kidney function. *Nephrol Dial Transplant.* 21 (7): 1855-1862.
- HOLM, LP; KERR, MG; TREES, AJ; MCGARRY, JW; MUNRO, ER Y SHAW, SE.** 2006. Fatal babesiosis in an untravelled British dog. *Vet Rec.* 159 (6): 179-180.
- HOLT, DE; SCHELLING, CG; SAUNDERS, HM Y ORSHER, RJ.** 1995. Correlation of ultrasonographic findings with surgical, portographic, and necropsy findings in dogs and cats with portosystemic shunts: 63 cases (1987-1993). *J Am Vet Med Assoc.* 207 (9): 1190-1193.
- HOMCO, LD.** 1996. Ultrasound Scanning Techniques. En: Green, RW (ed.). *Small Animal Ultrasound.* Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia (EE.UU.). 29-58.
- HOMER, MJ; AGUILAR-DELFIN, I; TELFORD, SR 3RD; KRAUSE, PJ Y PERSING, DH.** 2000. Babesiosis. *Clin Microbiol Rev.* 13 (3): 451-469.

- HORNOK, S; EDELHOFER, R Y FARKAS, R.** 2006. Seroprevalence of canine babesiosis in Hungary suggesting breed predisposition. *Parasitol Res.* 99 (6): 638-642.
- HOSOKI, T; KURODA, C; TOKUNAGA, K; MARUKAWA, T; MASUIKE, M Y KOZUKA, T.** 1989. Hepatic venous outflow obstruction: evaluation with pulsed duplex sonography. *Radiology.* 170 (3): 733-737.
- HUNFELD, KP; HILDEBRANDT, A Y GRAY, JS.** 2008. Babesiosis: Recent insights into an ancient disease. *Int J Parasitol.* 38 (11): 1219-1237.
- IKADAI, H; TANAKA, H; SHIBAHARA, N; MATSUU, A; UECHI, M; ITOH, N; OSHIRO, S; KUDO, N; IGARASHI, I Y OYAMADA, T.** 2004. Molecular evidence of infections with *Babesia gibsoni* parasites in Japan and evaluation of the diagnostic potential of a loop-mediated isothermal amplification method. *J Clin Microbiol.* 42 (6): 2465-2469.
- IKEE, R; KOBAYASHI, S; HEMMI, N; IMAKIIRE, T; KIKUCHI, Y; MORIYA, H; SUZUKI, S Y MIURA, S.** 2005. Correlation between the resistive index by Doppler ultrasound and kidney function and histology. *Am J Kidney Dis.* 46 (4): 603-609.
- INOKUMA, H; YOSHIZAKI, Y; MATSUMOTO, K; OKUDA, M; ONISHI, T; NAKAGOME, K; KOSUGI, R Y HIRAKAWA, M.** 2004. Molecular survey of *Babesia* infection in dogs in Okinawa, Japan. *Vet Parasitol.* 121 (3-4): 341-346.
- IRIZARRY-ROVIRA, AR; STEPHENS, J; CHRISTIAN, J; KJEMTRUP, A; DENICOLA, DB; WIDMER, WR Y CONRAD, PA.** 2001. *Babesia gibsoni* infection in a dog from Indiana. *Vet Clin Pathol.* 30 (4): 180-188.
- IRWIN, PJ Y HUTCHINSON, GW.** 1991. Clinical and pathological findings of *Babesia* infection in dogs. *Aust Vet J.* 68 (6): 204-209.
- IVANCIĆ, M Y MAI, W.** 2008. Qualitative and quantitative comparison of renal vs. hepatic ultrasonographic intensity in healthy dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 49 (4): 368-373.
- JACOBSON, LS.** 1994. Cerebellar ataxia as a possible complication of babesiosis in two dogs. *J S Afr Vet Assoc.* 65 (3): 130-131.

- JACOBSON, LS Y CLARK, IA.** 1994. The pathophysiology of canine babesiosis: new approaches to an old puzzle. *J S Afr Vet Assoc.* 65 (3): 134-145.
- JACOBSON, LS Y LEWIS, DC.** 1994. Blood transfusion in dogs, with special referent to babesiosis. *S. Afr. Vet. Med.* 7 (1): 81-88.
- JACOBSON, LS Y SWAN, GE.** 1995. Supportive treatment of canine babesiosis. *J S Afr Vet Assoc.* 66 (2): 95-105.
- JACOBSON, LS Y LOBETTI, RG.** 1996. Rhabdomyolysis as a complication of canine babesiosis. *J Small Anim Pract.* 37 (6): 286-291.
- JACOBSON, LS; LOBETTI, RG Y VAUGHAN-SCOTT, T.** 2000. Blood pressure changes in dogs with babesiosis. *J S Afr Vet Assoc.* 71 (1): 14-20.
- JACOBSON, LS; LOBETTI, RG; BECKER, P; REYERS, F Y VAUGHAN-SCOTT, T.** 2002. Nitric oxide metabolites in naturally occurring canine babesiosis. *Vet Parasitol.* 104 (1): 27-41.
- JACOBSON, LS Y LOBETTI, RG.** 2005. Glucose, lactate, and pyruvate concentrations in dogs with babesiosis. *Am J Vet Res.* 66 (2): 244-250.
- JACOBSON, LS.** 2006. The South African form of severe and complicated canine babesiosis: Clinical advances 1994-2004. *Vet Parasitol.* 138 (1-2): 126-139.
- JAMES, GD; SEALEY, JE; ALDERMAN, M; LJUNGMAN, S; MUELLER, FB; PECKER, MS Y LARAGH, JH.** 1988. A longitudinal study of urinary creatinine and creatinine clearance in normal subjects. Race, sex, and age differences. *Am J Hypertens.* 1 (2): 124-131.
- JANTHUR, M Y WIRTH, W.** 1997. Sonographic appearance of the canine kidney compared with pathologic-histologic morphology. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 110 (3): 102-110.
- JAROCH, MT; BROUGHAN, TA Y HERMANN, RE.** 1986. The natural history of splenic infarction. *Surgery.* 100 (4): 743-750.
- JEFFERIES, R; RYAN, UM; MUHLNICKEL, CJ E IRWIN, PJ.** 2003. Two species of canine *Babesia* in Australia: detection and characterization by PCR. *J Parasitol.* 89 (2): 409-412.

- JEFFERIES, R; RYAN, UM; JARDINE, J; BROUGHTON, DK; ROBERTSON, ID E IRWIN, PJ.** 2007a. Blood, Bull Terriers and Babesiosis: further evidence for direct transmission of *Babesia gibsoni* in dogs. Aust Vet J. 85 (11): 459-463.
- JEFFERIES, R; RYAN, UM; JARDINE, J; ROBERTSON, ID E IRWIN, PJ.** 2007b. *Babesia gibsoni*: Detection during experimental infections and after combined atovaquone and azithromycin therapy. Exp Parasitol. 117 (2): 115-123.
- JERNBERG, T; LINDAHL, B; JAMES, S; LARSSON, A; HANSSON, LO Y WALLENTIN, L.** 2004. Cystatin C: a novel predictor of outcome in suspected or confirmed non-ST-elevation acute coronary syndrome. Circulation. 110 (16): 2342-2348.
- JONAS, LD; THRALL, MA Y WEISER, MG.** 1987. Nonregenerative form of immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986-1990). J Am Vet Med Assoc 23 (3): 201-204.
- JULLIEN, T; VALTIER, B; HONGNAT, JM; DUBOURG, O; BOURDARIAS, JP Y JARDIN, F.** 1995. Incidence of tricuspid regurgitation and vena caval backward flow in mechanically ventilated patients. A color Doppler and contrast echocardiographic study. Chest. 107 (2): 488-493.
- KAITO, K; OTSUBO, H; USUI, N; YOSHIDA, M; TANNO, J; KURIHARA, E; MATSUMOTO, K; HIRATA, R; DOMITSU, K Y KOBAYASHI, M.** 2005. Platelet size deviation width, platelet large cell ratio, and mean platelet volume have sufficient sensitivity and specificity in the diagnosis of immune thrombocytopenia. Br J Haematol. 128 (5): 698-702.
- KALLET, AJ; COWGILL, LD Y KASS, PH.** 1997. Comparison of blood pressure measurements obtained in dogs by use of indirect oscillometry in a veterinary clinic versus at home. J Am Vet Med Assoc. 210 (5): 651-654.
- KANG, DH; KANELIS, J; HUGO, C; TRUONG, L; ANDERSON, S; KERJASCHKI, D; SCHREINER, GF Y JOHNSON, RJ.** 2002. Role of the microvascular endothelium in progressive renal disease. J Am Soc Nephrol. 13 (3): 806-816.
- KANTROWITZ, BM; NYLAND, TG Y FISHER, P.** 1989. Estimation of portal blood flow using duplex real-time and pulsed Doppler ultrasound imaging in the dog. Vet Radiol. 30 (5): 222-226.

- KAPLAN, NM.** 1997. Systemic hypertension: mechanisms and diagnosis. En: Braunwald, E. (ed.), Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. Fifth edition. WB Saunders, Philadelphia (EE. UU.). 87-90.
- KARPATKIN, S Y GARG, SK.** 1974. The megathrombocyte as an index of platelet production. Br J Haematol. 26 (3): 307-311.
- KEALY, JK.** 2000. The urinary system. En: Kealy, JK y Mc Allister, H (eds.), Diagnostic radiology and ultrasonography of the dog and the cat. Fourth edition. Mosby, St. Louis (EE. UU.). 112-117.
- KELLER, N; JACOBSON, LS; NEL, M; DE CLERQ, M; THOMPSON, PN Y SCHOEMAN, JP.** 2004. Prevalence and risk factors of hypoglycaemia in virulent canine babesiosis. J Vet Intern Med. 18 (3): 265-270.
- KERRY, JH.** 2005. Excretory urography. Clin Tech Small Anim Pract. 20 (3): 39-45.
- KETTNER, F; REYERS, F Y MILLER, D.** 2003. Thrombocytopaenia in canine babesiosis and its clinical usefulness. J S Afr Vet Assoc. 74 (3): 63-68.
- KIENLE, RD Y KITTLESON, MD.** 2000. Hipertensión arterial pulmonar y sistémica. En: Kittleson, MD; Kienle, RD. (eds.), Medicina cardiovascular de pequeños animales. Multimédica, Barcelona (España). 433-448.
- KIM, JY; CHO, SH; JOO, HN; TSUJI, M; CHO, SR; PARK, IJ; CHUNG, GT; JU, JW; CHEUN, HI; LEE, HW; LEE, YH Y KIM, TS.** 2007. First case of human babesiosis in Korea: detection and characterization of a novel type of *Babesia sp.* (KO1) similar to ovine *Babesia*. Clin Microbiol. 45 (6): 2084-2087.
- KIRBERGER, RM.** 1995. Imaging artifacts in diagnostic ultrasound: A review. Vet Radiol Ultrasound. 36 (4): 297-306.
- KIRBY, RR; KEMMERER, WT Y MORGAN, JL.** 1969. Transcutaneous Doppler measurements of blood pressure. Anesthesiology. 31 (1): 86-89.
- KITTLESON, MD Y OLIVIER, NB.** 1983. Measurement of systemic arterial blood pressure. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 13 (2): 321-336.

- KJEMTRUP, AM Y CONRAD, PA.** 2000. Human babesiosis: an emerging tick-borne disease. *Int J Parasitol.* 30 (12-13): 1323-1337.
- KJEMTRUP, AM; KOCAN, AA; WHITWORTH, L; MEINKOTH, J; BIRKENHEUER, AJ; CUMMINGS, J; BOUDREAUX, MK; STOCKHAM, SL; IRIZARRY-ROVIRA, A Y CONRAD, PA.** 2000. There are at least three genetically distinct small piroplasms from dogs. *Int J Parasitol.* 30 (14): 1501-1505.
- KJEMTRUP, AM; WAINWRIGHT, K; MILLER, M; PENZHORN, BL Y CARRENO, RA.** 2006. *Babesia conradae*, sp. Nov., a small canine *Babesia* identified in California. *Vet Parasitol.* 138 (1-2): 103-111.
- KJEMTRUP, AM Y CONRAD, PA.** 2006. A review of the small canine piroplasms from California: *Babesia conradae* in the literature. *Vet Parasitol.* 138 (1-2): 112-117.
- KLAG, AR; GIGER, U Y SHOFR, FS.** 1993. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986-1990). *J Am Vet Med Assoc.* 202 (5): 783-788.
- KLEIN, MK; COCKERELL, GL; HARRIS, CK; WITHROW, SJ; LULICH, JP; OGILVIE, GK; NORRIS, AM; HARVEY, HJ; RICHARDSON, RF; FOWLER, JD; TOMLINSON, J Y HENDERSON, RA.** 1988. Canine primary renal neoplasms. A retrospective review of 54 cases. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 24 (4): 443-452.
- KNAPP, R; PLÖTZENEDER, A; FRAUSCHER, F; HELWEG, G; JUDMAIER, W; ZUR NEDDEN, D; RECHEIS, W Y BARTSCH, G.** 1995. Variability of Doppler parameters in the healthy kidney: an anatomic-physiologic correlation. *J Ultrasound Med.* 14 (6): 427-429.
- KOCH, J; JENSEN, AL; WENCK, A; IVERSEN, L Y LYKKEGAARD, K.** 1997. Duplex Doppler measurements of renal blood flow in a dog with Addison's disease. *J Small Anim Pract.* 38 (3): 124-126.
- KOCK, N Y KELLY, P.** 1991. Massive hepatic necrosis associated with accidental imidocarb dipropionate toxicosis in a dog. *J Comp Pathol.* 104 (1): 113-116.
- KOENIG, W; TWARDELLA, D; BRENNER, H Y ROTHENBACHER, D.** 2005. Plasma concentrations of cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events: more than simply a marker of glomerular filtration rate. *Clin Chem.* 51 (2): 321-327.

- KOMA, LM; KIRBERGER, RM; LEISEWITZ, AL; JACOBSON, LS; BECKER, PJ Y BLAND VAN DEN BERG, P.** 2005. Comparison of effects of uncomplicated canine babesiosis and canine normovolaemic anaemia on abdominal splanchnic Doppler characteristics. A preliminary investigation. *J S Afr Vet Assoc.* 76 (3): 138-145.
- KOMA, LM; KIRBERGER, RM Y SCHOLTZ, L.** 2006. Doppler ultrasonographic changes in the canine kidney during normovolaemic anaemia. *Res Vet Sci.* 80 (1): 96-102.
- KONDE, LJ; WRIGLEY, RH; PARK, RD Y LEBEL, JL.** 1984. Ultrasonographic anatomy of the normal canine kidney. *Vet Radiol.* 25 (4): 173-178.
- KONDE, LJ; WRIGLEY, RH; PARK, RD Y LEBEL, JL.** 1985. Sonographic appearance of renal neoplasia in the dog. *Vet Radiol.* 26 (3): 74-81.
- KONDE, LJ; LEBEL, JL; PARK, RD Y WRIGLEY, RH.** 1986a. Sonographic application in the diagnosis of intraabdominal abscess in the dog. *Vet Radiol.* 27 (5): 151-154.
- KONDE, LJ; PARK, RD; WRIGLEY, RH Y LEBEL, JL.** 1986b. Comparison of radiography and ultrasonography in the evaluation of renal lesions in the dog. *J Am Vet Med Assoc.* 188 (12): 1420-1425.
- KONDE, LJ; WRIGLEY, RH; LEBEL, JL; PARK, RD; PUGH, C Y FINN, S.** 1989. Sonographic and radiographic changes associated with splenic torsion in the dog. *Vet Radiol.* 30 (1): 41-45.
- KONTOS, VJ Y KOUTINAS, AF.** 1997. Clinical observations in 15 spontaneous cases of canine babesiosis. *Canine Pract* 22 (4): 30-34.
- KORANT, BD; BRZIN, J Y TURK, V.** 1985. Cystatin, a protein inhibitor of cysteine proteases alters viral protein cleavages in infected human cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 127 (3): 1072-1076.
- KRAUSE, PJ; DAILY, J; TELFORD, SR; VANNIER, E; LANTOS, P Y SPIELMAN, A.** 2007. Shared features in the pathobiology of babesiosis and malaria. *Trends Parasitol.* 23 (12): 605-610.
- KREMKAU, FW Y TAYLOR, KJ.** 1986. Artifacts in ultrasound imaging. *J Ultrasound Med.* 5 (4): 227-237.

- KREMKAU, FW.** 1995. Doppler Ultrasound: Principles and Instruments. Second edition. WB Saunders, Philadelphia (EE.UU.).
- KREMKAU, FW.** 1998. Transducers. En: Kremkau, FW (ed.). Diagnostic Ultrasound: Principles and Instruments. Fifth edition. WB Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 79-139.
- KUTTLE, KL.** 1980. Pharmacotherapeutics of drugs used in treatment of anaplasmosis and babesiosis. J Am Vet Med Assoc. 176 (10): 1103-1108.
- KUTTLE, KL.** 1988a. World-wide impact of babesiosis. En: Ristic, M (ed), Babesiosis of Domestic Animals and Man. CRC Press, Boca Raton, Florida (EE.UU.). 1-22.
- KUTTLE, KL.** 1988b. Chemotherapy of babesiosis. En: Ristic, M (ed), Babesiosis of Domestic Animals and Man. CRC Press, Boca Raton, Florida (EE.UU.). 227-242.
- KYHSE-ANDERSEN, J; SCHMIDT, C; NORDIN, G; ANDERSSON, B; NILSSON-EHLE, P; LINDSTRÖM, V Y GRUBB, A.** 1994. Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. Clin Chem. 40 (10): 1921-1926.
- LAH, TT; KOKALJ-KUNOVAR, M; STRUKELJ, B; PUNGERCAR, J; BARLIC-MAGANJA, D; DROBNIC-KOSOROK, M; KASTELIC, L; BABNIK, J; GOLOUH, R Y TURK, V.** 1992. Stefins and lysosomal cathepsins B, L and D in human breast carcinoma. Int J Cancer. 50 (1): 36-44.
- LAING, FC Y KURTZ, AB.** 1982. The importance of ultrasonic side-lobe artifacts. Radiology. 145 (3): 763-768.
- LAING, FC.** 1983. Commonly encountered artifacts in clinical ultrasound. Semin Ultrasound. 4 (1): 27-43.
- LAMB, CR.** 1990. Abdominal ultrasonography in small animals: Examination of the liver, spleen and pancreas. J Small Anim Pract. 31 (1): 6-15.
- LAMB, CR.** 1991. Ultrasonography of the liver and biliary tract. Probl Vet Med. 3 (4): 555-573.
- LAMB, CR Y MAHONEY, PN.** 1994. Comparison of three methods for calculating portal blood flow velocity in dogs using duplex-Doppler ultrasonography. Vet Radiol Ultrasound. 35 (3): 190-194.

- LAMB, CR.** 1996. Ultrasonographic diagnosis of congenital portosystemic shunts in dogs: Results of a prospective study. *Vet Radiol Ultrasound*. 37 (4): 281-288.
- LAMB, CR; FORSTER-VAN HIJFTE, MA; WHITE, RN; McEVOY, FJ Y RUTGERS, HC.** 1996. Ultrasonographic diagnosis of congenital portosystemic shunt in 14 cats. *J Small Anim Pract*. 37 (5): 205-209.
- LAMB, CR.** 1998. Ultrasonography of portosystemic shunts in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 28 (4): 725-753.
- LAMB, CR Y WHITE, RN.** 1998. Morphology of congenital intrahepatic portacaval shunts in dogs and cats. *Vet Rec*. 142 (3): 55-60.
- LAMB, CR; BURTON, CA Y CARLISLE, CH.** 1999. Doppler measurement of hepatic arterial flow in dogs: Technique and preliminary findings. *Vet Radiol Ultrasound*. 40 (1): 77-81.
- LAPPIN, MR.** 2007. Infecciones protozoarias y de otros tipos. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), *Tratado de medicina interna veterinaria*. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 638-646.
- LAPPIN, MR.** 2009. Infectious diseases. En: Nelson, RW y Couto, CG (eds.), *Small animal internal medicine*. Fourth edition. Mosby Elsevier, Philadelphia (EE.UU.). 1281-1388.
- LAST, RD; HILL, JM; MATJILA, PT Y RÈME, CA.** 2007. A field trial evaluation of the prophylactic efficacy of amitraz-impregnated collars against canine babesiosis (*Babesia canis rossii*) in South Africa. *J S Afr Vet Assoc*. 78 (2): 63-65.
- LEIBY, DA.** 2006. Babesiosis and blood transfusion: flying under the radar. *Vox Sang*. 90 (3): 157-165.
- LEISEWITZ, AL; JACOBSON, LS; DE MORAIS, HS Y REYERS, F.** 2001. The mixed acid-base disturbances of severe canine babesiosis. *J Vet Intern Med*. 15 (5): 445-452.
- LEVEY, AS; BERG, RL; GASSMAN, JJ; HALL, PM Y WALKER, WG.** 1989. Creatinine filtration, secretion and excretion during progressive renal disease. Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) Study Group. *Kidney Int Suppl*. 27 (1): 73-80.

- LOBETTI, RG.** 1995. Leukaemoid response in two dogs with *Babesia canis* infection. J S Afr Vet Assoc 66 (3): 182-184.
- LOBETTI, RG; REYERS, F Y NESBIT, JW.** 1996. The comparative role of haemoglobinaemia and hypoxia in the development of canine *Babesia* nephropathy. J S Afr Vet Assoc. 67 (4): 188-198.
- LOBETTI, RG.** 1998. Canine Babesiosis. Compend Contin Educ Pract Vet. 20 (4): 418-430.
- LOBETTI, RG; MOHR, AJ; DIPPENAAR, T Y MYBURGH, E.** 2000. A preliminary study on the serum protein response in canine babesiosis. J S Afr Vet Assoc. 71 (1): 38-42.
- LOBETTI, RG Y JACOBSON, LS.** 2001. Renal involvement in dogs with babesiosis. J S Afr Vet Assoc. 72 (1): 23-28.
- LOBETTI, R; DVIR, E Y PEARSON, J.** 2002. Cardiac troponins in canine babesiosis. J Vet Intern Med. 16 (1): 63-68.
- LOBETTI, RG.** 2005. Cardiac involvement in canine babesiosis. J S Afr Vet Assoc. 76 (1): 4-8.
- LOBETTI, RG.** 2007a. Is canine babesiosis a model for falciparum malaria? 17th ECVIM-CA Congress and 9th ESVCP Congress. Budapest (Hungría).
- LOBETTI, RG.** 2007b. Renal function in canine babesiosis. 17th ECVIM-CA Congress and 9th ESVCP Congress. Budapest (Hungría).
- LOPERFIDO, F; LOMBARDO, A; AMICO, CM; VIGNA, C; TESTA, M; ROSSI, E; COSTALUNGA, A; PENNESTRI, F Y BIASUCCI, LM.** 1993. Doppler analysis of portal vein flow in tricuspid regurgitation. J Heart Valve Dis. 2 (2): 174-182.
- LORIOT, N; MARTINOT, S Y FRANCK, M.** 1997. Ecografía abdominal del perro y el gato. Masson, Barcelona (España).
- LU, ZF; ZAGZEBSKI, JA; O'BRIEN, RT Y STEINBERG, H.** 1997. Ultrasound attenuation and backscatter in the liver during prednisone administration. Ultrasound Med Biol. 23 (1): 1-8.

- MACINTIRE, DK; BOUDREAUX, MK; WEST, GD; BOURNE, C; WRIGHT, JC Y CONRAD, PA.** 2002. *Babesia gibsoni* infection among dogs in the south-eastern United States. J Am Vet Med Assoc. 220 (3): 325-329.
- MAEGRAITH, B; GILLES, HM Y DEVAKUL, K.** 1957. Pathological processes in *Babesia canis* infections. Z Tropenmed Parasitol. 8 (4): 485-514.
- MANCIA, G; BERTINIERI, G; GRASSI, G; PARATI, G; POMIDOSSI, G; FERRARI, A; GREGORINI, L Y ZANCHETTI, A.** 1983. Effects of blood-pressure measurement by the doctor on patient's blood pressure and heart rate. Lancet. 2 (8352): 695-698.
- MANNES, AJ; MARTIN, BM; YANG, HY; KELLER, JM; LEWIN, S; GAISER, RR Y IADAROLA, MJ.** 2003. Cystatin C as a cerebrospinal fluid biomarker for pain in humans. Pain. 102 (3): 251-256.
- MARESCAL, A; D'ANJOU, MA; MOREAU, M; ALEXANDER, K Y BEAUREGARD, G.** 2007. Ultrasonographic measurement of kidney-to-aorta ratio as a method of estimating renal size in dogs. Vet Radiol Ultrasound. 48 (5): 434-438.
- MARTIN, AR; DUNSTAN, RH; ROBERTS, TK Y BROWN, GK.** 2006a. *Babesia canis vogeli*: a novel PCR for its detection in dogs in Australia. Exp Parasitol. 112 (1): 63-65.
- MARTÍN, MV; BARROSO, S; HERRÁEZ, O; DE SANDE, F Y CARAVACA, F.** 2006b. Cistatina C como estimador de la función renal en estadios avanzados de enfermedad renal crónica. Nefrología. 26 (4): 433-438.
- MARTÍNEZ-SUBIELA, S; TECLES, F; ECKERSALL, PD Y CERÓN, JJ.** 2002. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. Vet Rec. 150 (8): 241-244.
- MARTÍNEZ-SUBIELA, S; BERNAL, LJ Y CERÓN, JJ.** 2003. Serum concentrations of acute-phase proteins in dogs with leishmaniosis during short-term treatment. Am J Vet Res. 64 (8): 1021-1026.
- MARTINOD, S; BROSSARD, M Y MOREAU, Y.** 1985. Immunity of dogs against *Babesia canis*, its vector tick *Dermacentor reticulatus*, and *Ixodes ricinus* in endemic area. J Parasitol. 71 (3): 269-273.

- MARTINOD, S; LAURENT, N Y MOREAU, Y. 1986. Resistance and immunity of dogs against *Babesia canis* in an endemic area. Vet Parasitol. 19 (3-4): 245-254.
- MASUDA, T; BABA, E Y ARAKAWA, A. 1983. Relapse of canine babesiosis after prednisolone treatment. Mod Vet Pract 64 (5): 931-932.
- MÁTHÉ, A; VÖRÖS, K; PAPP, L Y REICZIGEL, J. 2006a. Clinical manifestations of canine babesiosis in Hungary (63 cases). Acta Vet Hung. 54 (3): 367-385.
- MÁTHÉ, A; VÖROS, K; NÉMETH, T; BIKSI, I; HETYEY, C; MANCZUR, F Y TEKES, L. 2006b. Clinicopathological changes and effect of imidocarb therapy in dogs experimentally infected with *Babesia canis*. Acta Vet Hung. 54 (1): 19-33.
- MÁTHÉ, A; DOBOS-KOVÁCS, M Y VÖRÖS, K. 2007. Histological and ultrastructural studies of renal lesions in *Babesia canis* infected dogs treated with imidocarb. Acta Vet Hung. 55 (4): 511-523.
- MATIJATKO, V; MRLJAK, V; KIS, I; KUCER, N; FORSEK, J; ZIVICNJAK, T; ROMIC, Z; SIMEC, Z Y CERON, JJ. 2007. Evidence of an acute phase response in dogs naturally infected with *Babesia canis*. Vet Parasitol. 144 (3-4): 242-250.
- MATIJATKO, V; KIS, I; TORTI, M; BRKLJACIĆ, M; KUCER, N; RAFAJ, RB; GRDEN, D; ZIVICNJAK, T Y MRLJAK, V. 2009. Septic shock in canine babesiosis. Vet Parasitol. 162 (3-4): 263-270.
- MATJILA, PT; PENZHORN, BL; BEKKER, CPJ; NIJHOF, AM Y JONGEJAN, F. 2004. Confirmation of occurrence of *Babesia canis vogeli* in domestic dogs in South Africa. Vet Parasitol. 122 (2): 119-125.
- MATOON, JS; AULD, DM Y NYLAND, TG. 2002. Abdominal ultrasound scanning techniques. En: Nyland, TG y Matoon, JS (eds.), Small Animal Diagnostic Ultrasound. Second edition. Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 49-81.
- MATSUU, A; KAWABE, A; KOSHIDA, Y; IKADAI, H; OKANO, S Y HIGUCHI, S. 2004. Incidence of canine *Babesia gibsoni* infection and subclinical infection among Tosa dogs in Aomori Prefecture, Japan. J Vet Med Sci. 66 (8): 893-897.
- MCLEISH, I. 1977. Doppler ultrasonic arterial pressure measurement in the cat. Vet Rec. 100 (14): 290-291.

- MCQUISTON, JH; CHILDS, JE; CHAMBERLAND, ME Y TABOR, E.** 2000. Transmission of tick-borne agents of disease by blood transfusion: a review of known and potential risks in the United States. *Transfusion*. 40 (3): 274-284.
- MEHLHORN, H Y SCHEIN, E.** 1987. The piroplasms: life cycle and sexual stages. *Adv Parasitol*. 23 (1): 37-103.
- MEHTA, A; MEHTA, M Y JAIN, AC.** 1999. Constrictive pericarditis. *Clin Cardiol*. 22 (5): 334-344.
- MELIANI, P; KHATIBI, S; RANDAZZO, S; GORENFLOT, A Y MARCHOU, B.** 2006. Human babesiosis. *Med Mal Infect*. 36 (10): 499-504.
- MELO, MB; VEADO, JC; SILVA, EF; MOREIRA, SM Y PASSOS, LM.** 2006. Renal arteries Dopplerfluxometry: normal systolic and diastolic flow velocities and resistive index values in the main renal arteries. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 58 (4): 691-693.
- MERRITT, CR.** 1987. Doppler color flow imaging. *J Clin Ultrasound*. 15 (9): 591-597.
- MEURS, KM; MILLER, MW; SLATER, MR Y GLAZE, K.** 2000. Arterial blood pressure measurement in a population of healthy geriatric dogs. *J Am Anim Hosp Assoc*. 36 (6): 497-500.
- M'GHIRBI, Y Y BOUATTOUT, A.** 2008. Detection and molecular characterization of *Babesia canis vogeli* from naturally infected dogs and *Rhipicephalus sanguineus* ticks in Tunisia. *Vet Parasitol*. 152 (1-2): 1-7.
- MICHELL, AR.** 2000. Hypertension in dogs: the value of comparative medicine. *J R Soc Med*. 93 (9): 451-452.
- MIDDLETON, WD Y MELSON, GL.** 1989. Renal duplication artifact in US imaging. *Radiology*. 173 (2): 427-429.
- MILETIĆ, D; FUCKAR, Z; SUSTIĆ, A; MOZETIC, V; SMOKVINA, A Y STANCIĆ, M.** 1998. Resistance and pulsatility indices in acute renal obstruction. *J Clin Ultrasound*. 26 (2): 79-84.
- MINICH, LL; TANI, LY; SHADDY, RE Y SNIDER, AR.** 1996. Doppler systemic venous flow patterns: changes in children with mild/moderate pulmonic stenosis. *J Am Soc Echocardiogr*. 9 (6): 814-818.

- MINTZ, ED; ANDERSON, JF; CABLE, RG Y HADLER, JL.** 1991. Transfusion-transmitted babesiosis: a case report from a new endemic area. *Transfusion*. 31 (4): 365-368.
- MITTELSTAEDT, CA Y PARTAIN, CL.** 1980. Ultrasonic-pathologic classification of splenic abnormalities: gray-scale patterns. *Radiology*. 134 (3): 697-705.
- MIYAMA, T; SAKATA, Y; SHIMADA, Y; OGINO, S; WATANABE, M; ITAMOTO, K; OKUDA, M; VERDIDA, RA; XUAN, X; NAGASAWA, H Y INOKUMA, H.** 2005. Epidemiological survey of *Babesia gibsoni* infection in dogs in eastern Japan. *J Vet Med Sci*. 67 (5): 467-471.
- MOHR, AJ; LOBETTI, RG Y VAN DER LUGT, JJ.** 2000. Acute pancreatitis: a newly recognised potential complication of canine babesiosis. *J S Afr Vet Assoc*. 71 (4): 232-239.
- MOLYNEUX, ME; TAYLOR, TE; WIRIMA, JJ Y BORGSTEIN, A.** 1989. Clinical features and prognostic indicators in paediatric cerebral malaria: a study of 131 comatose Malawian children. *Q J Med*. 71 (265): 441-459.
- MOORE, DJ.** 1979. Therapeutic implications of *Babesia canis* infection in dogs. *J S Afr Vet Assoc*. 50 (4): 346-352.
- MOORE, DJ Y WILLIAMS, MC.** 1979. Disseminated intravascular coagulation: a complication of *Babesia canis* infection in the dog. *J S Afr Vet Assoc*. 50 (4): 265-275.
- MOREAU, Y; MARTINOD, S Y FAYET, G.** 1988. Epidemiologic and immunoprophylactic aspects of canine babesiosis in France. En: Ristic, M (ed.), *Babesiosis of domestic animals and man*. CRC Press, Boca Raton, Florida (EE.UU.). 191-196.
- MOREAU, Y; VIDOR, E; BISSUEL, G Y DUBREUIL, N.** 1989. Vaccination against canine babesiosis: an overview of field observations. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 83 (1): 95-96.
- MORITZ, A; FICKENSCHER, Y; MEYER, K; FAILING, K Y WEISS, DJ.** 2004. Canine and feline hematology reference values for the ADVIA 120 hematology system. *Vet Clin Pathol*. 33 (1): 32-38.
- MORITZ, A; WALCHECK, BK Y WEISS, DJ.** 2005. Evaluation of flow cytometric and automated methods for detection of activated platelets in dogs with inflammatory disease. *Am J Vet Res*. 66 (2): 325-329.

- MORROW, KL; SALMAN, MD; LAPPIN, MR Y WRIGLEY, R.** 1996. Comparison of the resistive index to clinical parameters in dogs with renal disease. *Vet Radiol Ultrasound*. 37 (3): 193-199.
- MOZERSKY, DJ; TUMBLIN, RN Y HAGOOD, CO.** 1975. Practical office technics for physiologic vascular testing. *South Med J*. 68 (1): 17-21.
- MÜLLER, N; COOPERBERG, PL; ROWLEY, VA; MAYO, J; HO, B Y LI, DK.** 1984. Ultrasonic refraction by the rectus abdominis muscles: the double image artifact. *J Ultrasound Med*. 3 (11): 515-519.
- MUSSAP, M Y PLEBANI, M.** 2004. Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 41 (5-6): 467-550.
- MWANZA, T; MIYAMOTO, T; OKUMURA, M; KADOSAWA, T Y FUJINAGA, T.** 1998. Ultrasonographic evaluation of portal vein hemodynamics in experimentally bile duct ligated dogs. *Jpn J Vet Res*. 45 (4): 199-206.
- NAGAI, A; MURAKAWA, Y; TERASHIMA, M; SHIMODE, K; UMEGAE, N; TAKEUCHI, H Y KOBAYASHI, S.** 2000. Cystatin C and cathepsin B in CSF from patients with inflammatory neurologic diseases. *Neurology*. 55 (12): 1828-1832.
- NAGAI, A; TERASHIMA, M; HARADA, T; SHIMODE, K; TAKEUCHI, H; MURAKAWA, Y; NAGASAKI, M; NAKANO, A Y KOBAYASHI, S.** 2003. Cathepsin B and H activities and cystatin C concentrations in cerebrospinal fluid from patients with leptomeningeal metastasis. *Clin Chim Acta*. 329 (1-2): 53-60.
- NANGAKU, M.** 2004. Mechanisms of tubulointerstitial injury in the kidney: final common pathways to end-stage renal failure. *Intern Med*. 43 (1): 9-17.
- NAVARRETE, I Y NIETO, L.** 1999. Babesiosis, Hepatozoonosis, Citauxzoonosis felina. En: Cordero-del-Campillo, M; Rojo-Vázquez, FA. (eds.), *Parasitología Veterinaria*. McGraw Hill-Interamericana, Madrid (España). 672-678.
- NAVARRETE, I; SERRANO, F Y REINA, D.** 1999. Babesiosis. En: Cordero-del-Campillo, M; Rojo-Vázquez, FA. (eds.), *Parasitología Veterinaria*. McGraw Hill-Interamericana, Madrid (España). 283-293.

- NEL, M; LOBETTI, RG; KELLER, N Y THOMPSON, PN.** 2004. Prognostic value of blood lactate, blood glucose, and haematocrit in canine babesiosis. *J Vet Intern Med.* 18 (4): 471-476.
- NELSON, TR Y PRETORIUS, DH.** 1988. The Doppler signal: where does it come from and what does it mean? *AJR Am J Roentgenol.* 151 (3): 439-447.
- NELSON, OL.** 2004. Enfermedades del parénquima pulmonar. En: Morgan, RV; Bright, RM y Swartout, MS (eds.), *Clínica de pequeños animales*. Cuarta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 172-189.
- NELSON, OL Y SELLON, RK.** 2007. Nemonías parenquimatosas. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), *Tratado de medicina interna veterinaria*. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 1239-1265.
- NEWMAN, DJ; THAKKAR, H; EDWARDS, RG; WILKIE, M; WHITE, T; GRUBB, AO Y PRICE, CP.** 1995. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int.* 47 (1): 312-318.
- NICOLL, RG; O'BRIEN, RT Y JACKSON, MW.** 1998. Qualitative ultrasonography of the liver in obese cats. *Vet Radiol Ultrasound.* 39 (1): 47-50.
- NIWETPATHOMWAT, A; TECHANGAMSUWAN, S; SUVARNAVIBHAJA, S Y ASSARASAKORN, S.** 2006. A retrospective study of clinical haematology and biochemistry of canine babesiosis on hospital populations in Bangkok, Thailand. *Comp Clin Pathol.* 15 (2): 110-112.
- NORTHERN, J Y TVEDTEN HW.** 1992. Diagnosis of microthrombocytosis and immune-mediated thrombocytopenia in dogs with thrombocytopenia: 68 cases (1987-1989). *J Am Vet Med Assoc.* 200 (3): 368-372.
- NOVELLAS, R; ESPADA, Y Y RUIZ DE GOPEGUI, R.** 2007a. Doppler ultrasonographic estimation of renal and ocular resistive and pulsatility indices in normal dogs and cats. *Vet Radiol Ultrasound.* 48 (1): 69-73.
- NOVELLAS, R; RUIZ DE GOPEGUI, R Y ESPADA, Y.** 2007b. Effects of sedation with midazolam and butorphanol on resistive and pulsatility indices in healthy dogs. *Vet Radiol Ultrasound.* 48 (3): 276-280.

- NOVELLAS, R; RUIZ DE GOPEGUI, R Y ESPADA, Y.** 2007c. Increased renal vascular resistance in dogs with hepatic disease. *Vet J.* 178 (2): 257-262.
- NYLAND, TG Y PARK, RD.** 1983. Hepatic ultrasonography in the dog. *Vet Radiol.* 24 (2): 74-84.
- NYLAND, TG Y HAGER, DA.** 1985. Sonography of the liver, gallbladder, and spleen. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 15 (6): 1123-1148.
- NYLAND, TG; HAGER, DA Y HERRING, DS.** 1989. Sonography of the liver, gallbladder, and spleen. *Semin Vet Med Surg (Small Anim).* 4 (1): 13-31.
- NYLAND, TG Y FISHER, PE.** 1990. Evaluation of experimentally induced canine hepatic cirrhosis using duplex Doppler ultrasound. *Vet Radiol.* 31 (4): 189-194.
- NYLAND, TG; FISHER, PE; DOVERSPIKE, M; HORNOF, WJ Y OLANDER, HJ.** 1993. Diagnosis of urinary tract obstruction in dogs using duplex Doppler ultrasonography. *Vet Radiol Ultrasound.* 34 (5): 348-352.
- NYLAND, TG; FISHER, PE; GREGORY, CR Y WISNER, ER.** 1997. Ultrasonographic evaluation of renal size in dogs with acute allograft rejection. *Vet Radiol Ultrasound.* 38 (1): 55-61.
- NYLAND, TG; MATOON, JS; HERRGESELL, EJ Y WISNER, ER.** 2002a. Physical principles, instrumentation, and safety of diagnostic ultrasound. En: Nyland, TG y Matoon, JS (eds.). *Small Animal Diagnostic Ultrasound.* Second edition. Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 1-18.
- NYLAND, TG; MATOON, JS; HERRGESELL, EJ Y WISNER, ER.** 2002b. Spleen. En: Nyland, TG y Matoon, JS (eds.). *Small Animal Diagnostic Ultrasound.* Second edition. Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 128-143.
- NYLAND, TG; MATOON, JS; HERRGESELL, EJ Y WISNER, ER.** 2002c. Liver. En: Nyland, TG y Matoon, JS (eds.). *Small Animal Diagnostic Ultrasound.* Second edition. Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 93-127.
- NYLAND, TG; MATOON, JS; HERRGESELL, EJ Y WISNER, ER.** 2002d. Urinary tract. En: Nyland, TG y Matoon, JS (eds.). *Small Animal Diagnostic Ultrasound.* Second edition. Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 158-195.

- O'BRIEN, RT; ZAGZEBSKI, JA; LU, ZF Y STEINBERG, H.** 1996. Measurement of acoustic backscatter and attenuation in the liver of dogs with experimentally induced steroid hepatopathy. *Am J Vet Res.* 57 (12): 1690-1694.
- OGUNKOYA, AB; ADEYANJU, JB Y ALIU, YO.** 1981. Experiences with the use of Imizol in treating canine blood parasites in Nigeria. *J Small Anim Pract.* 22 (12): 775-777.
- OHNISHI, K; SAITO, M; NAKAYAMA, T; IIDA, S; NOMURA, F; KOEN, H Y OKUDA, K.** 1985. Portal venous hemodynamics in chronic liver disease: effects of posture change and exercise. *Radiology.* 155 (3): 757-761.
- OKADA, T; YOSHIDA, H; IWAI, J; MATSUNAGA, T; YOSHINO, K; OHTSUKA, Y; KOUCHI, K; TANABE, M Y OHNUMA, N.** 2001. Pulsed Doppler sonography of the hilar renal artery: differentiation of obstructive from nonobstructive hydronephrosis in children. *J Pediatr Surg.* 36 (3): 416-420.
- O'KEEFE, DA Y COUTO, CG.** 1987. Fine-needle aspiration of the spleen as an aid in the diagnosis of splenomegaly. *J Vet Intern Med.* 1 (3): 102-109.
- ONISHI, T; UEDA, K; HORIE, M; KAJIKAWA, T Y OHISHI, I.** 1990. Serum hemolytic activity in dogs infected with *Babesia gibsoni*. *J Parasitol.* 76 (4): 564-567.
- OSBORNE, CA; PERMAN, V Y STEVENS, JB.** 1974. Needle biopsy of the spleen. *Vet Clin North Am.* 4 (2): 311-316.
- OTTO, CM.** 2002. Sepsis. En: Wingfield, WE y Raffe, MR (eds.), *The veterinary ICU book*. Teton NewMedia, Jackson, Wyoming (EE.UU.). 695-709.
- OTTO, CM.** 2007. Shock. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), *Tratado de medicina interna veterinaria*. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 455-457.
- OYAMADA, M; DAVOUST, B; BONI, M; DEREURE, J; BUCHETON, B; HAMMAD, A; ITAMOTO, K; OKUDA, M Y INOKUMA, H.** 2005. Detection of *Babesia canis rossi*, *B. canis vogeli*, and *Hepatozoon canis* in dogs in a village of eastern Sudan by using a screening PCR and sequencing methodologies. *Clin Diagn Lab Immunol.* 12 (11): 1343-1346.

- PAGES, JP Y TROUILLET, JL.** 1984. Thrombocytopenie dans la babesiosis du chien. A propos de 153 observations. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.* 19 (2): 222-227.
- PAGES, JP; VIDOR, E; TROUILLET, JL; BISSUEL, G; LECOINTRE, O Y MOREAU, Y.** 1990. Description clinique, hématologique et sérologique de 133 cas de babésiose canine. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.* 25 (1): 89-97.
- PAGITZ, M; FROMMLET, F Y SCHWENDENWEIN, I.** 2007. Evaluation of biological variance of cystatin C in comparison with other endogenous markers of glomerular filtration rate in healthy dogs. *J Vet Intern Med.* 21 (5): 936-942.
- PANNEN, BH Y ROBOTHAM, JL.** 1995. The acute-phase response. *New Horiz.* 3 (2): 183-197.
- PARENT, C; KING, LG; WALKER, LM Y VAN WINKLE, TJ.** 1996. Clinical and clinicopathologic findings in dogs with acute respiratory distress syndrome: 19 cases. *J Am Vet Med Assoc.* 208 (9): 1419-1427.
- PARK, RD; NYLAND, TG; LATTIMER, JC; MILLER, CW Y LEBEL, JL.** 1981. B-mode gray-scale ultrasound: Imaging artifacts and interpretation principles. *Vet Radiol.* 22 (5): 204-210.
- PARTINGTON, BP Y BILLER, DS.** 1995. Hepatic imaging with radiology and ultrasound. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 25 (2): 305-335.
- PARTINGTON, BP Y BILLER, DS.** 1996a. Spleen. En: Green, RW (ed.). *Small Animal Ultrasound.* Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia (EE.UU.). 131-148.
- PARTINGTON, BP Y BILLER, DS.** 1996b. Liver. En: Green, RW (ed.). *Small Animal Ultrasound.* Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia (EE.UU.). 105-130.
- PASSOS, LM; GEIGER, SM; RIBEIRO, MF; PFISTER, K Y ZAHLE-RINDER, M.** 2005. First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil. *Vet Parasitol.* 127 (1): 81-85.
- PASTOR, J.** 2009. La historia clínica y el laboratorio en el abordaje del paciente con anemia. XXVI Congreso Anual de AMVAC. Madrid (España).
- PATNAIK, AK; HURVITZ, AI Y LIEBERMAN, PH.** 1980. Canine hepatic neoplasms: a clinicopathologic study. *Vet Pathol.* 17 (5): 553-564.

- PENNINCK, DG.** 2002. Artifacts. En: Nyland, TG y Mattoon, JS (eds.). Small Animal Diagnostic Ultrasound. Second edition. Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 19-29.
- PENZHORN, BL; LEWIS, BD; DE WAAL, DT Y LÓPEZ REBOLLAR, LM.** 1995. Sterilisation of *Babesia canis* infections by imidocarb alone or in combination with diminazene. J S Afr Vet Assoc. 66 (3): 157-159.
- PERGANDE, M Y JUNG, K.** 1993. Sandwich enzyme immunoassay of cystatin C in serum with commercially available antibodies. Clin Chem. 39 (9): 1885-1890.
- PERRONE, RD; MADIAS, NE Y LEVEY, AS.** 1992. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. Clin Chem. 38 (10): 1933-1953.
- PETERSEN, LJ; PETERSEN, JR; TALLERUPHUUS, U; LADEFOGED, SD; MEHLSSEN, J Y JENSEN, HA.** 1997. The pulsatility index and the resistive index in renal arteries. Associations with long-term progression in chronic renal failure. Nephrol Dial Transplant. 12 (7): 1376-1380.
- PETTERSEN, JC; LINARTZ, RR; HAMLIN, RL Y STOLL, RE.** 1988. Non-invasive measurement of systemic arterial blood pressure in the conscious beagle dog. Fundam Appl Toxicol. 10 (1): 89-97.
- PLATT, JF; RUBIN, JM; BOWERMAN, RA Y MARN, CS.** 1988. The inability to detect kidney disease on the basis of echogenicity. AJR Am J Roentgenol. 151 (2): 317-319.
- PLATT, JF; RUBIN, JM; ELLIS, JH Y DiPIETRO, MA.** 1989. Duplex Doppler US of the kidney: differentiation of obstructive from nonobstructive dilatation. Radiology. 171 (2): 515-517.
- PLATT, JF; ELLIS, JH Y RUBIN, JM.** 1991a. Renal transplant pyelocaliectasis: role of duplex Doppler US in evaluation. Radiology. 179 (2): 425-428.
- PLATT, JF; RUBIN, JM Y ELLIS, JH.** 1991b. Acute renal failure: possible role of duplex Doppler US in distinction between acute prerenal failure and acute tubular necrosis. Radiology. 179 (2): 419-423.
- PLATT, JF.** 1992. Duplex Doppler evaluation of native kidney dysfunction: obstructive and nonobstructive disease. AJR Am J Roentgenol. 158 (5): 1035-1042.

- PLATT, JF; MARN, CS; BALIGA, PK; ELLIS, JH; RUBIN, JM Y MERION, RM.** 1992. Renal dysfunction in hepatic disease: early identification with renal duplex Doppler US in patients who undergo liver transplantation. *Radiology*. 183 (3): 801-806.
- PLATT, JF; ELLIS, JH; RUBIN, JM; MERION, RM Y LUCEY, MR.** 1994. Renal duplex Doppler ultrasonography: a noninvasive predictor of kidney dysfunction and hepatorenal failure in liver disease. *Hepatology*. 20 (2): 362-369.
- PLATT, JF.** 1997. Doppler ultrasound of the kidney. *Semin Ultrasound CT MR*. 18 (1): 22-32.
- PLATT, JF; RUBIN, JM Y ELLIS, JH.** 1997. Lupus nephritis: predictive value of conventional and Doppler US and comparison with serologic and biopsy parameters. *Radiology*. 203 (1): 82-86.
- PONTREMOLI, R; VIAZZI, F; MARTINOLI, C; RAVERA, M; NICOLELLA, C; BERRUTI, V; LEONCINI, G; RUELLO, N; ZAGAMI, P; BEZANTE, GP; DERCHI, LE Y DEFERRARI, G.** 1999. Increased renal resistive index in patients with essential hypertension: a marker of target organ damage. *Nephrol Dial Transplant*. 14 (2): 360-365.
- POPE, JC; HERNANZ-SCHULMAN, M; SHOWALTER, PR; COLE, TC; SCHRUM, FF; SZURKUS, D Y BROCK, JW.** 1996. The value of Doppler resistive index and peak systolic velocity in the evaluation of porcine renal obstruction. *J Urol*. 156 (2): 730-733.
- PORCIELLO, F; RISHNIW, M; HERNDON, WE; BIRETONI, F; ANTOGNONI, MT Y SIMPSON, KW.** 2008. Cardiac troponin I is elevated in dogs and cats with azotaemia renal failure and in dogs with non-cardiac systemic disease. *Aust Vet J*. 86 (10): 390-394.
- POZNIAK, MA; KELCZ, F; D'ALESSANDRO, A; OBERLEY, T Y STRATTA, R.** 1992. Sonography of renal transplants in dogs: the effect of acute tubular necrosis, cyclosporine nephrotoxicity, and acute rejection on resistive index and renal length. *AJR Am J Roentgenol*. 158 (4): 791-797.
- QUICK, RE; HERWALDT, BL; THOMFORD, JW; GARNETT, ME; EBERHARD, ML; WILSON, M; SPACH, DH; DICKERSON, JW; TELFORD, SR 3RD; STEINGART, KR; POLLOCK, R; PERSING, DH; KOBAYASHI, JM; JURANEK, DD Y CONRAD, PA.** 1993. Babesiosis in Washington State: a new species of *Babesia*? *Ann Intern Med*. 119 (4): 284-290.
- RADERMACHER, J.** 2006. Resistive index: an ideal test for renovascular disease or ischemic nephropathy? *Nat Clin Pract Nephrol*. 2 (5): 232-233.

- RAMOS, IM; TAYLOR, KJ; KIER, R; BURNS, PN; SNOWER, DP Y CARTER, D.** 1988. Tumor vascular signals in renal masses: detection with Doppler US. *Radiology*. 168 (3): 633-637.
- RAMSEY, M.** 1991. Blood pressure monitoring: automated oscillometric devices. *J Clin Monit*. 7 (1): 56-67.
- RANDERS, E; KRISTENSEN, JH; ERLANDSEN, EJ Y DANIELSEN, H.** 1998. Serum cystatin C as a marker of the renal function. *Scand J Clin Lab Invest*. 58 (7): 585-592.
- RANDERS, E; KORNERUP, K; ERLANDSEN, EJ; HASLING, C Y DANIELSEN, H.** 2001. Cystatin C levels in sera of patients with acute infectious diseases with high C-reactive protein levels. *Scand J Clin Lab Invest*. 61 (4): 333-335.
- RASMUSSEN, SN; HAASE, L; KJELDSSEN, H Y HANCKE, S.** 1978. Determination of renal volume by ultrasound scanning. *J Clin Ultrasound*. 6 (3): 160-164.
- REES, P Y SCHOEMAN, JP.** 2008. Plasma insulin concentrations in hypoglycaemic dogs with *Babesia canis rossi* infection. *Vet Parasitol*. 152 (1-2): 60-66.
- REEZIGT, BJ.** 2007. Integration of blood pressure measurement in a small animal referral practice. 17th ECVIM-CA Congress and 9th ESVCP Congress. Budapest (Hungria).
- REIBER, H.** 2001. Dynamics of brain-derived proteins in cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta*. 310 (2): 173-186.
- REID, MH; MACKAY, RS Y LANTZ, BM.** 1980. Noninvasive blood flow measurements by Doppler ultrasound with application to renal artery flow determination. *Invest Radiol*. 15 (4): 323-331.
- REITER, I Y WEILAND, G.** 1989. Recently developed methods for the detection of *Babesia* infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 83 (Suplemento): 21-23.
- REMILLARD, RL; ROSS, JN Y EDDY, JB.** 1991. Variance of indirect blood pressure measurements and prevalence of hypertension in clinically normal dogs. *Am J Vet Res*. 52 (4): 561-565.
- RENGO, C; BREVETTI, G; SORRENTINO, G; D'AMATO, T; IMPARATO, M; VITALE, DF; ACANFORA, D Y RENGÓ, F.** 1998. Portal vein pulsatility ratio provides a measure of right heart function in chronic heart failure. *Ultrasound Med Biol*. 24 (3): 327-332.

- RENOWDEN, SA Y COCHLIN, DL.** 1992a. The potential use of diuresis Doppler sonography in PUJ obstruction. *Clin Radiol.* 46 (2): 94-96.
- RENOWDEN, SA Y COCHLIN, DL.** 1992b. The effect of intravenous furosemide on the Doppler waveform in normal kidneys. *J Ultrasound Med.* 11 (3): 65-68.
- RENOWDEN, SA; GRIFFITHS, DF; NAIR, S; KRISHNAN, H Y COCHLIN, DL.** 1992. Renal transplant sonography: correlation of Doppler and biopsy results in cellular rejection. *Clin Radiol.* 46 (4): 265-269.
- REYERS, F; LEISEWITZ, AL; LOBETTI, RG; MILNER, RJ; JACOBSON, LS Y VAN ZYL, M.** 1998. Canine babesiosis in South Africa: more than one disease. Does this serve as a model for falciparum malaria? *Ann Trop Med Parasitol.* 92 (4): 503-511.
- RISHNIW, M; BARR, SC; SIMPSON, KW; WINAND, NJ Y WOOTTON, JA.** 2004. Cloning and sequencing of the canine and feline cardiac troponin I genes. *Am J Vet Res.* 65 (1): 53-58.
- RISTIC, M Y KREIER, JP.** 1984. Malaria and babesiosis: similarities and differences. En: Ristic, M; Ambroise-Thomas, P y Kreier, J (eds.), *Malaria and babesiosis research finding and control measures.* Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht (Holanda). 3-33.
- RIVERS, BJ; WALTER, PA; POLZIN, DJ Y KING, VL.** 1997a. Duplex doppler estimation of intrarenal pourcelot resistive index in dogs and cats with renal disease. *J Vet Intern Med.* 11 (4): 250-260.
- RIVERS, BJ; WALTER, PA; LETOURNEAU, JG; FINLAY, DE; RITENOUR, ER; KING, VL; O'BRIEN, TD Y POLZIN, DJ.** 1997b. Duplex Doppler estimation of resistive index in arcuate arteries of sedated, normal female dogs: implications for use in the diagnosis of renal failure. *J Am Anim Hosp Assoc.* 33 (1): 69-76.
- ROBINSON, DE; WILSON, LS Y KOSOFF, G.** 1981. Shadowing and enhancement in ultrasonic echograms by reflection and refraction. *J Clin Ultrasound.* 9 (4): 181-188.
- RUBIN, JM; ADLER, RS; BUDE, RO; FOWLKES, JB Y CARSON, PL.** 1991. Clean and dirty shadowing at US: A reappraisal. *Radiology.* 181 (1): 231-236.

- RUIZ DE GOPEGUI, R; SUÁREZ, ML; RODRÍGUEZ, I; SANTAMARINA, G; FIDALGO, LE Y GOICOA, A.** 2004. Eritrofagocitosis y leucofagocitosis en sangre periférica en babesiosis canina. ARGOS. 58: 56-57.
- RUIZ DE GOPEGUI, R; PEÑALBA, B; GOICOA, A; ESPADA, Y; FIDALGO, LE Y ESPINO, L.** 2007. Clinico-pathological findings and coagulation disorders in 45 cases of canine babesiosis. Vet J. 174 (1): 129-132.
- SAFAR, M.** 1990. Ageing and its effects on the cardiovascular system. Drugs. 39 (1): 1-8.
- SAINZ, A; TESOURO, MA; AMUSATEGUI, I; RODRIGUEZ, F; MAZZUCHELLI, F Y RODRIGUEZ, M.** 2000. Prospective comparative study of 3 treatment protocols using doxycycline or imidocarb dipropionate in dogs with naturally occurring ehrlichiosis. J Vet Intern Med. 14 (2): 134-139.
- SANCHEZ, JC; GUILLAUME, E; LESCUYER, P; ALLARD, L; CARRETTE, O; SCHERL, A; BURGESS, J; CORTHALS, GL; BURKHARD, PR Y HOCHSTRASSER, DF.** 2004. Cystatin C as a potential cerebrospinal fluid marker for the diagnosis of Creutzfeldt-Jakob disease. Proteomics. 4 (8): 2229-2233.
- SÁNCHEZ-LOZADA, LG; TAPIA, E; JOHNSON, RJ; RODRÍGUEZ-ITURBE, B Y HERRERA-ACOSTA, J.** 2003. Glomerular hemodynamic changes associated with arteriolar lesions and tubulointerstitial inflammation. Kidney Int Suppl. 86: 9-14.
- SARI, A; DINC, H; ZIBANDEH, A; TELATAR, M Y GÜMELE, HR.** 1999. Value of resistive index in patients with clinical diabetic nephropathy. Invest Radiol. 34 (11): 718-721.
- SASAKI, M; OMOBOWALE, O; TOZUKA, M; OHTA, K; MATSUU, A; NOTTIDGE, HO; HIRATA, H; IKADAI, H Y OYAMADA, T.** 2007. Molecular survey of *Babesia canis* in dogs in Nigeria. J Vet Med Sci. 69 (11): 1191-1193.
- SAUNDERS, HM; PUGH, CR Y RHODES, WH.** 1992. Expanding applications of abdominal ultrasonography. J Am Anim Hosp Assoc. 28: 369-374.
- SAWYER, DC; BROWN, M; STRILER, EL; DURHAM, RA; LANGHAM, MA Y RECH, RH.** 1991. Comparison of direct and indirect blood pressure measurement in anesthetized dogs. Lab Anim Sci. 41 (2): 134-138.

- SCHETTERS, TH; KLEUSKENS, J; SCHOLTES, N Y BOS, HJ.** 1995. Strain variation limits protective activity of vaccines based on soluble *Babesia canis* antigens. *Parasite Immunol.* 17 (4): 215-218.
- SCHETTERS, TP; MOUBRI, K; PRÉCIGOUT, E; KLEUSKENS, J; SCHOLTES, NC Y GORENFLOT, A.** 1997a. Different *Babesia canis* isolates, different diseases. *Parasitology.* 115 (5): 485-893.
- SCHETTERS, TP; KLEUSKENS, JA; SCHOLTES, NC; PASMAN, JW Y GOOVAERTS, D.** 1997b. Vaccination of dogs against *Babesia canis* infection. *Vet Parasitol.* 73 (1-2): 35-41.
- SCHETTERS, TP; KLEUSKENS, JA; SCHOLTES, NC Y GORENFLOT, A.** 1998. Parasite localization and dissemination in the *Babesia*-infected host. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology.* 92 (4): 513-519.
- SCHETTERS, TP Y ELING, WM.** 1999. Can *Babesia* infections be used as a model for cerebral malaria? *Parasitol Today.* 15 (12): 492-497.
- SCHETTERS, TP; KLEUSKENS, JA; SCHOLTES, NC; GORENFLOT, A; MOUBRI, K Y VERMEULEN, AN.** 2001. Vaccination of dogs against heterologous *Babesia canis* infection using antigens from culture supernatants. *Vet Parasitol.* 100 (1-2): 75-86.
- SCHETTERS, TP.** 2005. Vaccination against canine babesiosis. *Trends Parasitol.* 21 (4): 179-184.
- SCHETTERS, TP; KLEUSKENS, JA; SCHOLTES, NC; VAN DE CROMMERT, J; KRIJNEN, E; MOUBRI, K; GORENFLOT, A Y VERMEULEN, AN.** 2006. Onset and duration of immunity against *Babesia canis* infection in dogs vaccinated with antigens from culture supernatants. *Vet Parasitol.* 138 (1-2): 140-146.
- SCHETTERS, TP; STRYDOM, T; CRAFFORD, D; KLEUSKENS, JA; VAN DE CROMMERT, J Y VERMEULEN, AN.** 2007. Immunity against *Babesia rossi* infection in dogs vaccinated with antigens from culture supernatants. *Vet Parasitol.* 144 (1-2): 10-19.
- SCHETTERS, TP; KLEUSKENS, JA; VAN DE CROMMERT, J; DE LEEUW, PW; FINIZIO, AL Y GORENFLOT, A.** 2009. Systemic inflammatory responses in dogs experimentally infected with *Babesia canis*; a haematological study. *Vet Parasitol.* 162 (1-2): 7-15.

- SCHOBER, KE.** 2007. Marcadores bioquímicos de la enfermedad cardiovascular. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), Tratado de medicina interna veterinaria. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 940-948.
- SCHOEMAN, JP Y HERRTAGE, ME.** 2007. The response of the pituitary-adrenal and pituitary-thyroidal axes to the plasma glucose perturbations in *Babesia canis rossi* babesiosis. J S Afr Vet Assoc. 78 (4): 215-220.
- SCHOEMAN, JP; REES, P Y HERRTAGE, ME.** 2007. Endocrine predictors of mortality in canine babesiosis caused by *Babesia canis rossi*. Vet Parasitol. 148 (2): 75-82.
- SCHOEMAN, JP Y HERRTAGE, ME.** 2008. Adrenal response to the low dose ACTH stimulation test and the cortisol-to-adrenocorticotrophic hormone ratio in canine babesiosis. Vet Parasitol. 154 (3-4): 205-213.
- SCHWARZ, LA; PENNING, DG Y LEVEILLE-WEBSTER, C.** 1998. Hepatic abscesses in 13 dogs: a review of the ultrasonographic findings, clinical data and therapeutic options. Vet Radiol Ultrasound. 39 (4): 357-365.
- SEHGAL, CM; ARGER, PH; SILVER, AC; PATTON, JA; SAUNDERS, HM; BHATTACHARYYA, A Y BELL, CP.** 2001. Renal blood flow changes induced with endothelin-1 and fenoldopam mesylate at quantitative Doppler US: initial results in a canine study. Radiology. 219 (2): 419-426.
- SHAKESPEARE, AS.** 1995. The incidence of canine babesiosis amongst sick dogs presented to the Onderstepoort Veterinary Academic Hospital. J S Afr Vet Assoc. 66 (4): 247-250.
- SHLIPAK, MG; SARNAK, MJ; KATZ, R; FRIED, LF; SELIGER, SL; NEWMAN, AB; SISCOVICK, DS Y STEHMAN-BREEN, C.** 2005. Cystatin C and the risk of death and cardiovascular events among elderly persons. N Engl J Med. 352 (20): 2049-2060.
- SILER, J; HUNTER, TB; WEISS, J Y HABER, K.** 1980. Increased echogenicity of the spleen in benign and malignant disease. AJR Am J Roentgenol. 134 (5): 1011-1014.
- SIMONSEN, O; GRUBB, A Y THYSELL, H.** 1985. The blood serum concentration of cystatin C (gamma-trace) as a measure of the glomerular filtration rate. Scand J Clin Lab Invest. 45 (2): 97-101.

- SITPRIJA, V; NAPATHORN, S; LAORPATANASKUL, S; SUTHICHAITYAKUL, T; MOOLLAOR, P; SUWANGOOL, P; SRIDAMA, V; THAMAREE, S Y TANKEYOON, M.** 1996. Renal and systemic hemodynamics, in falciparum malaria. *Am J Nephrol.* 16 (6): 513-519.
- SKRABALO, Z Y DEANOVIC, Z.** 1957. Piroplasmosis in man; report of a case. *Doc Med Geogr Trop.* 9 (1): 11-16.
- SLEEPER, MM.** 2008. Special Diagnostic Techniques for Evaluation of Cardiac Disease. En: Tilley, LP; Smith, FW; Oyama, MA y Sleeper, MM (eds.), *Manual of Canine and Feline Cardiology*. Fourth edition. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri (EE.UU.). 99-107.
- SMITH, RD Y KAKOMA, I.** 1989. A reappraisal of vector control strategies for babesiosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 83 (Suplemento): 43-52.
- SOLANO-GALLEGO, L; TROTTA, M; CARLI, E; CARCY, B; CALDIN, M Y FURLANELLO, T.** 2008. *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* clinicopathological findings and DNA detection by means of PCR-RFLP in blood from Italian dogs suspected of tick-borne disease. *Vet Parasitol.* 157 (3-4): 211-221.
- SOLANO-GALLEGO, L.** 2008a. Pathogenesis and molecular diagnosis of canine babesiosis. 13th ISACP, 10th ESVCP, 8th AECCP and 7th APP Congress. Barcelona (España).
- SOLANO-GALLEGO, L.** 2008b. ¿Qué hay de nuevo en la babesiosis canina y felina? Southern European Veterinary Conference (43 Congreso Nacional de AVEPA). Barcelona (España).
- SOMMER, FG; FILLY, RA Y MINTON, MJ.** 1979. Acoustic shadowing due to refractive and reflective effects. *AJR Am J Roentgenol.* 132 (6): 973-979.
- SOMMER, FG Y TAYLOR, KJ.** 1980. Differentiation of acoustic shadowing due to calculi and gas collections. *Radiology.* 135 (2): 399-403.
- SOULSBY, E JL.** 1987. *Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos*. Séptima edición. Interamericana, México D.F. (México).
- SPANGLER, WL; GRIBBLE, DH Y WEISER, MG.** 1977. Canine hypertension: a review. *J Am Vet Med Assoc.* 170 (9): 995-998.

- SPARKES, AH; CANEY, SM; KING, MC Y GRUFFYDD-JONES, TJ.** 1999. Inter- and intraindividual variation in Doppler ultrasonic indirect blood pressure measurements in healthy cats. *J Vet Intern Med.* 13 (4): 314-318.
- SPLENDIANI, G; PAROLINI, C; FORTUNATO, L; STURNIOLO, A Y COSTANZI, S.** 2002. Resistive index in chronic nephropathies: predictive value of renal outcome. *Clin Nephrol.* 57 (1): 45-50.
- SPOTSWOOD, TC; KIRBERGER, RM; KOMA, LM; THOMPSON, PN Y MILLER, BM.** 2006. Changes in echocardiographic variables of left ventricular size and function in a model of canine normovolemic anemia. *Vet Radiol Ultrasound.* 47 (4): 358-365.
- STEEL, DM Y WHITEHEAD, AS.** 1994. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunol Today.* 15 (2): 81-88.
- STEGEMAN, JR; BIRKENHEUER, AJ; KRUGER, JM Y BREITSCHWERDT, EB.** 2003. Transfusion-associated *Babesia gibsoni* infection in a dog. *J Am Vet Med Assoc.* 222 (7): 959-963.
- STEPIEN, RL; BONAGURA, JD; BEDNARSKI, RM Y MUIR, WW.** 1995. Cardiorespiratory effects of acepromazine maleate and buprenorphine hydrochloride in clinically normal dogs. *Am J Vet Res.* 56 (1): 78-84.
- STEPIEN, RL Y RAPOPORT, GS.** 1999. Clinical comparison of three methods to measure blood pressure in nonsedated dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 215 (11): 1623-1628.
- STEPIEN, RL.** 2000. Blood pressure measurement in dogs and cats. *In Pract.* 22 (3): 136-145.
- STEPIEN, RL.** 2004. Blood Pressure Measurement: Equipment, Methodology and Clinical Recommendations. XXII Annual American College of Veterinary Internal Medicine Congress (ACVIM) Forum Proceedings. Minneapolis (EE.UU.).
- STEPIEN, RL.** 2007. Evaluación de la presión arterial. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), *Tratado de medicina interna veterinaria*. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 469-472.
- STOKOL, T; BLUE, JT Y FRENCH, TW.** 2000. Idiopathic pure red cell aplasia and nonregenerative immune-mediated anemia in dogs: 43 cases (1988-1999). *J Am Vet Med Assoc.* 216 (9): 1429-1436.

- STOWATER, JL; LAMB, CR Y SCHELLING, SH.** 1990. Ultrasonographic features of canine hepatic nodular hyperplasia. *Vet Radiol.* 31 (5): 268-272.
- SUÁREZ, ML; ESPINO, L; GOICOA, A; FIDALGO, LE Y SANTAMARINA, G.** 2000. Estudio clínico-laboratorial de perros infectados con *Babesia canis* y con *Babesia canis* y *Ehrlichia canis* simultáneamente. Congreso de Medicina Interna Veterinaria SEMIV 2000. Murcia (España).
- SUAREZ, ML; ESPINO, L; GOICOA, A; FIDALGO, LE Y SANTAMARINA, G.** 2001. Fatal *Babesia gibsoni* infection in a dog from Spain. *Vet Rec.* 148 (26): 819-820.
- SUAREZ, ML.** 2009. Actualización de las parasitosis eritrocitarias en el perro y el gato. XXVI Congreso Anual de AMVAC. Madrid (España).
- SULLIVAN, PS; MANNING, KL Y McDONALD, TP.** 1995. Association of mean platelet volume and bone marrow megakaryocytopoiesis in thrombocytopenic dogs: 60 cases (1984-1993). *J Am Vet Med Assoc.* 206 (3): 332-334.
- SZATMÁRI, V; NÉMETH, T; KÓTAI, I; VÖRÖS, K Y SÓTONYI, P.** 2000. Doppler ultrasonographic diagnosis and anatomy of congenital intrahepatic arterioportal fistula in a puppy. *Vet Radiol Ultrasound.* 41 (3): 284-286.
- SZATMÁRI, V; SÓTONYI, P Y VÖRÖS, K.** 2001. Normal duplex Doppler waveforms of major abdominal blood vessels in dogs: a review. *Vet Radiol Ultrasound.* 42 (2): 93-107.
- TABOADA, J Y MERCHANT, SR.** 1991. Babesiosis of companion animals and man. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 21 (1): 103-123.
- TABOADA, J; HARVEY, JW; LEVY, MG Y BREITSCHWERDT, EB.** 1992. Seroprevalence of babesiosis in Greyhounds in Florida. *J Am Vet Med Assoc.* 200 (1): 47-50.
- TABOADA, J.** 1997. Babesiosis canina. En: Bonagura, J; Kirk, R (eds.), *Terapéutica veterinaria de pequeños animales*. XII edición. McGraw-Hill-Interamericana, México D.F. (México). 343-348.
- TABOADA, J.** 1998. Babesiosis. En: Greene, CE (ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. Second edition. W.B. Saunders, Philadelphia (EE.UU.). 473-481.

- TABOADA, J Y LOBETTI, R.** 2006. Babesiosis. En: Greene, CE (ed.), Infectious Diseases of the dog and cat. Third edition. Saunders Elsevier, Philadelphia (EE.UU.). 722-736.
- TAKAHASHI, S; NARUMI, Y; TAKAHARA, S; SUZUKI, S; KYO, M; CRUZ, M; TAKAMURA, M; KOKADO, Y; ICHIMARU, N; TOKI, K; NAKAMURA, H Y OKUYAMA, A.** 1999. Acute renal allograft rejection in the canine: evaluation with serial duplex Doppler ultrasonography. Transplant Proc. 31 (3): 1731-1734.
- TAYLOR, KJ Y MILAN, J.** 1976. Differential diagnosis of chronic splenomegaly by grey-scale ultrasonography: Clinical observations and digital A-scan analysis. Br J Radiol. 49 (582): 519-525.
- TAYLOR, PM.** 2007. Hipotermia. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), Tratado de medicina interna veterinaria. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 13-15.
- TAYLOR, MA; COOP, RL Y WALL, RL.** 2007. Veterinary Parasitology. Third edition. Blackwell Publishing Ltd., Oxford (Reino Unido).
- TELLA, A Y MAEGRAITH, BG.** 1965. Physiopathological changes in primary acute blood-transmitted malaria and *Babesia* infections. II. A comparative study of serum-protein levels in infected rhesus monkeys, mice and puppies. Ann Trop Med Parasitol. 59: 153-158.
- TENSTAD, O; ROALD, AB; GRUBB, A Y AUKLAND, K.** 1996. Renal handling of radiolabelled human cystatin C in the rat. Scand J Clin Lab Invest. 56 (5): 409-414.
- TERRY, JD; RYSAVY, JA Y FRICK, MP.** 1992. Intrarenal Doppler: characteristics of aging kidneys. J Ultrasound Med. 11 (12): 647-651.
- TIEMESSEN, I.** 1992. Diagnostic imaging of the liver in dogs. Tijdschr Diergeneesk. 117 (1): 42-43.
- TRAPP, SM; DAGNONE, AS; VIDOTTO, O; FREIRE, RL; AMUDE, AM Y DE MORAIS, HS.** 2006. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. Vet Parasitol. 140 (3-4): 223-230.
- TUBLIN, ME; BUDE, RO Y PLATT, JF.** 2003. Review. The resistive index in renal Doppler sonography: where do we stand? AJR Am J Roentgenol. 180 (4): 885-892.

- UHNÖO, I; CARL, O; CHRISTENSSON, D Y NYSTROM-ROSANDER, C.** 1992. First documented case of human babesiosis in Sweden. *Scand J Infect Dis.* 24 (4): 541-547.
- UILENBERG, G; VERDIESEN, PA Y ZWART, D.** 1981. Imidocarb: a chemoprophylactic experiment with *Babesia canis*. *Vet Q.* 3 (3): 118-123.
- UILENBERG, G; FRANSSEN, FF; PERIE, NM Y SPANJER, AA.** 1989. Three groups of *Babesia canis* distinguished and a proposal for nomenclature. *Vet Q.* 11 (1): 33-40.
- ULUTAS, B; BAYRAMLI, G; ULUTAS, PA Y KARAGENC, T.** 2005. Serum concentration of some acute phase proteins in naturally occurring canine babesiosis: a preliminary study. *Vet Clin Pathol.* 34 (2): 144-147.
- URQUHART, GM; ARMOUR, J; DUNCAN, JL; DUNN, AM Y JENNINGS, FW.** 2001. *Veterinary Parasitology*. Second edition. Blackwell Science Ltd., Oxford (Reino Unido).
- VANDEMAN, FN; MEILSTRUP, JW Y NEALEY, PA.** 1990. Acoustic prism causing sonographic duplication artifact in the upper abdomen. *Invest Radiol.* 25 (6): 658-663.
- VANNIER, E; GEWURZ, BE Y KRAUSE, PJ.** 2008. Human babesiosis. *Infect Dis Clin North Am.* 22 (3): 469-488.
- VANSONNENBERG, E; SIMEONE, JF; MUELLER, PR; WITTENBERG, J; HALL, DA Y FERRUCCI, JT JR.** 1983. Sonographic appearance of haematoma in liver, spleen, and kidney: a clinical, pathologic, and animal study. *Radiology.* 147 (2): 507-510.
- VAN WINKLE, TJ Y BRUCE, E.** 1993. Thrombosis of the portal vein in eleven dogs. *Vet Pathol.* 30 (1): 28-35.
- VATNER, SF; HIGGINS, CB Y FRANKLIN, D.** 1972. Regional circulatory adjustments to moderate and severe chronic anemia in conscious dogs at rest and during exercise. *Circ Res.* 30 (4): 731-740.
- VENZAL, JM; CASTRO, O; CABRERA, PA; DE SOUZA, C Y GUGLIELMONE, AA.** 2003. Garrapatas de importancia médica y veterinaria en Uruguay. *Entomol. Vect.* 10 (4): 635-650.
- VERCAMMEN, F; DE DEKEN, R Y MAES, L.** 1995. Clinical and serological observations on experimental infections with *Babesia canis* and its diagnosis using the IFAT. *Parasite.* 2 (4): 407-410.

- VERCAMMEN, F; DE DEKEN, R Y MAES, L.** 1996a. Prophylactic activity of imidocarb against experimental infection with *Babesia canis*. Vet Parasitol. 63 (3-4): 195-198.
- VERCAMMEN, F; DE DEKEN, R Y MAES, L.** 1996b. Prophylactic treatment of experimental canine babesiosis (*Babesia canis*) with doxycycline. Vet Parasitol. 66 (3-4): 251-255.
- VERCAMMEN, F; DEDEKEN, R Y MAES, L.** 1997. Hematological and biochemical profiles in experimental canine babesiosis (*Babesia canis*). Vlaams Diergeneesk Tijdsch. 66 (5): 174-178.
- VERDIDA, RA; HARA, OA; XUAN, X; FUKUMOTO, S; IGARASHI, I; ZHANG, S; DONG, J; INOKUMA, H; KABEYA, H; SATO, Y; MORITOMO, T; MARUYAMA, S; CLAVERIA, F Y NAGASAWA, H.** 2004. Serodiagnosis of *Babesia gibsoni* infection in dogs by an improved enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant truncated P50. J Vet Med Sci. 66 (12): 1517-1521.
- VIAL, HJ Y GORENFLOT, A.** 2006. Chemotherapy against babesiosis. Vet Parasitol. 138 (1-2): 147-160.
- VINCENT, IC; MICHELL, AR Y LEAHY, RA.** 1993. Non-invasive measurement of arterial blood pressure in dogs: a potential indicator for the identification of stress. Res Vet Sci. 54 (2): 195-201.
- VINCENT, IC Y MICHELL, AR.** 1996. Relationship between blood pressure and stress-prone temperament in dogs. Physiol Behav. 60 (1): 135-138.
- VÖRÖS, K; VRABELY, T; PAPP, L; HORVATH, L Y KARSAI, F.** 1991. Correlation of ultrasonographic and pathomorphological findings in canine hepatic diseases. J Small Anim Pract. 32 (12): 627-634.
- WACHSBERG, RH; NEEDLEMAN, L Y WILSON, DJ.** 1995. Portal vein pulsatility in normal and cirrhotic adults without cardiac disease. J Clin Ultrasound. 23 (1): 3-15.
- WADDELL, LS.** 2007. Hipotensión. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), Tratado de medicina interna veterinaria. Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 480-483.
- WALTER, PA; FEENEY, DA; JOHNSTON, GR Y O'LEARY, TP.** 1987. Ultrasonographic evaluation of renal parenchymal diseases in dogs: 32 cases (1981-1986). J Am Vet Med Assoc. 191 (8): 999-1007.

- WALTER, PA; JOHNSTON, GR; FEENEY, DA Y O'BRIEN, TD.** 1988. Applications of ultrasonography in the diagnosis of parenchymal kidney disease in cats: 24 cases (1981-1986). *J Am Vet Med Assoc.* 192 (1): 92-98.
- WANG, KY; PANCIERA, DL; AL-RUKIBAT, RK Y RADI, ZA.** 2004. Accuracy of ultrasound-guided fine-needle aspiration of the liver and cytologic findings in dogs and cats: 97 cases (1990-2000). *J Am Vet Med Assoc.* 224 (1): 75-78.
- WARE, WA.** 2009. Cardiovascular system disorders. En: Nelson, RW y Couto, CG (eds.), *Small animal internal medicine.* Fourth edition. Mosby Elsevier, Philadelphia (EE.UU.). 1-206.
- WARFEL, AH; ZUCKER-FRANKLIN, D; FRANGIONE, B Y GHISO, J.** 1987. Constitutive secretion of cystatin C (gamma-trace) by monocytes and macrophages and its downregulation after stimulation. *J Exp Med.* 166 (6): 1912-1917.
- WEBER, JA Y VAN ZANTEN, AP.** 1991. Interferences in current methods for measurements of creatinine. *Clin Chem.* 37 (5): 695-700.
- WEBSTER, CR.** 2007. Anamnesis, signos clínicos y hallazgos físicos en las enfermedades hepato biliares. En: Ettinger, SJ y Feldman, EC (eds.), *Tratado de medicina interna veterinaria.* Sexta edición. Elsevier Saunders, Madrid (España). 1422-1435.
- WEHNER, A; HARTMANN, K Y HIRSCHBERGER, J.** 2008. Utility of serum cystatin C as a clinical measure of renal function in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 44 (3): 131-138.
- WEISER, MG; SPANGLER, WL Y GRIBBLE, DH.** 1977. Blood pressure measurement in the dog. *J Am Vet Med Assoc.* 171 (4): 364-368.
- WELLS, PN.** 1999. Principios Básicos y Física del Doppler. En: Taylor, KJ; Burns, PN y Wells, PN (eds.). *Doppler. Aplicaciones Clínicas de la Ecografía Doppler.* Segunda edición. Marban Libros, Madrid (España). 1-18.
- WELLS, PN.** 2006. Ultrasound imaging. *Phys Med Biol.* 51 (13): 83-98.
- WELZL, C; LEISEWITZ, AL; JACOBSON, LS; VAUGHAN-SCOTT, T Y MYBURGH, E.** 2001. Systemic inflammatory response syndrome and multiple-organ damage/dysfunction in complicated canine babesiosis. *J S Afr Vet Assoc.* 72 (3): 158-162.

- WHITE, WB.** 1986. Assessment of patients with office hypertension by 24-hour non-invasive ambulatory blood pressure monitoring. *Arch Intern Med.* 146 (11): 2196-2199.
- WHITE, NJ; WARRELL, DA; CHANTHAVANICH, P; LOOAREESUWAN, S; WARRELL, MJ; KRISHNA, S; WILLIAMSON, DH Y TURNER, RC.** 1983. Severe hypoglycaemia and hyperinsulinemia in falciparum malaria. *N Engl J Med.* 309 (2): 61-66.
- WHITELEY, MB; FEENEY, DA; WHITELEY, LO Y HARDY, RM.** 1989. Ultrasonographic appearance of primary and metastatic canine hepatic tumors. A review of 48 cases. *J Ultrasound Med.* 8 (11): 621-630.
- WLOSNIEWSKI, A; LERICHE, MA; CHAVIGNY, C; ULMER, P; DONNAY, V; BOULOUIS, HJ; MAHL, P Y DRUILHE, P.** 1997. Asymptomatic carriers of *Babesia canis* in an enzootic area. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 20 (1): 75-86.
- WOOD, AK; MCCARTHY, PH Y ANGLES, JM.** 1990. Ultrasonographic-anatomic correlation and imaging protocol for the spleen in anesthetized dogs. *Am J Vet Res.* 51 (9): 1433-1438.
- WRIGHT, IG Y KERR, JD.** 1977. Hypotension in acute *Babesia bovis* (= *B. argentina*) infections of splenectomized calves. *J Comp Pathol.* 87 (4): 531-537.
- WRIGLEY, RH; MACY, DW Y WYKES, PM.** 1983. Ligation of ductus venosus in a dog, using ultrasonographic guidance. *J Am Vet Med Assoc.* 183 (12): 1461-1464.
- WRIGLEY, RH.** 1985. Radiographic and ultrasonographic diagnosis of liver diseases in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 15 (1): 21-38.
- WRIGLEY, RH; KONDE, LJ; PARK, RD Y LEBEL, JL.** 1987. Ultrasonographic diagnosis of portacaval shunts in young dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 191 (4): 421-424.
- WRIGLEY, RH; KONDE, LJ; PARK, RD Y LEBEL, JL.** 1988a. Ultrasonographic features of splenic lymphosarcoma in dogs: 12 cases (1980-1986). *J Am Vet Med Assoc.* 193 (12): 1565-1568.
- WRIGLEY, RH; PARK, RD; KONDE, LJ Y LEBEL, JL.** 1988b. Ultrasonographic features of splenic hemangiosarcoma in dogs: 18 cases (1980-1986). *J Am Vet Med Assoc.* 192 (8): 1113-1117.
- WRIGLEY, RH.** 1991. Ultrasonography of the spleen. Life-threatening splenic disorders. *Probl Vet Med.* 3 (4): 574-581.

- WULANSARI, R; WIJAYA, A; ANO, H; HORII, Y; NASU, T; YAMANE, S Y MAKIMURA, S.** 2003. Clindamycin in the Treatment of *Babesia gibsoni* Infections in Dogs. J Am Anim Hosp Assoc. 39 (6): 558-562.
- XU, X; ZOU, J; DING, X; XIN, D Y REN, Y.** 2004. Clinical value of serum cystatin C by ELISA for estimation of glomerular filtration rate. J Clin Lab Anal. 18 (2): 61-64.
- YAMANE, I; THOMFORD, JW; GARDNER, IA; DUBEY, JP; LEVY, M Y CONRAD, PA.** 1993. Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Babesia gibsoni* infections in dogs. Am J Vet Res. 54 (10): 1579-1584.
- YEAGER, AE Y MOHAMMED, H.** 1992. Accuracy of ultrasonography in the detection of severe hepatic lipidosis in cats. Am J Vet Res. 53 (4): 597-599.
- ZAHLER, M; SCHEIN, E; RINDER, H Y GOTHE, R.** 1998. Characteristic genotypes discriminate between *Babesia canis* isolates of differing vector specificity and pathogenicity to dogs. Parasitol Res. 84 (7): 544-548.
- ZAHLER, M; RINDER, H; ZWEYGARTH, E; FUKATA, T; MAEDE, Y; SCHEIN, E Y GOTHE, R.** 2000a. '*Babesia gibsoni*' of dogs from North America and Asia belong to different species. Parasitology. 120 (4): 365-369.
- ZAHLER, M; RINDER, H; SCHEIN, E Y GOTHE, R.** 2000b. Detection of a new pathogenic *Babesia microti*-like species in dogs. Vet Parasitol. 89 (3): 241-248.
- ZAMBELLI, AB Y LEISEWITZ, AL.** 2009. A prospective, randomized comparison of Oxyglobin (HB-200) and packed red blood cell transfusion for canine babesiosis. J Vet Emerg Crit Care. 19 (1): 102-112.
- ZISKIN, MC; THICKMAN, DI; GOLDENBERG, NJ; LAPAYOWKER, MS Y BECKER, JM.** 1982. The comet tail artifact. J Ultrasound Med. 1 (1): 1-7.
- ZWIEBEL, WJ.** 1990. Color duplex imaging and Doppler spectrum analysis: principle, capabilities, and limitations. Semin Ultrasound CT MR. 11 (2): 84-96.
- ZYGNER, W Y WEDRYCHOWICZ, H.** 2006. Occurrence of hard ticks in dogs from Warsaw area. Ann Agric Environ Med. 13 (2): 355-359.

- ZYGNER, W; GOJSKA, O; RAPACKA, G; JAROS, D Y WEDRYCHOWICZ, H.** 2007. Hematological changes during the course of canine babesiosis caused by large *Babesia* in domestic dogs in Warsaw (Poland). Vet Parasitol. 145 (1-2): 146-151.

RESÚMENES

9. RESÚMENES

9.1. RESUMEN

La babesiosis es una enfermedad de importancia mundial producida por microorganismos hematozoarios del género *Babesia*, capaces de parasitar un amplio rango de huéspedes vertebrados. Transmitida por garrapatas, produce en el perro un cuadro clínico caracterizado por un síndrome febril y hemolítico, lo que origina cuadros importantes de anemia y hemoglobinuria. No obstante, la gravedad de esta enfermedad es muy variable en función, sobre todo, de la especie de *Babesia* implicada, pudiendo presentarse como una enfermedad relativamente leve o causar un cuadro grave que suponga la muerte del animal.

Un aspecto importante de la babesiosis canina es el hecho de ser una enfermedad emergente, con la aparición de nuevos y numerosos casos en distintas zonas de Europa, Estados Unidos, África, Australia o Japón. La transmisión de la enfermedad se ha visto facilitada por el transporte internacional de perros y por los cambios climáticos, que favorecen la presencia de vectores en regiones previamente libres de ellos. También ha adquirido importancia por el hecho de ser una grave zoonosis y por haberse establecido como modelo potencial para el estudio de la malaria en el hombre. Por ello, cada vez son más los estudios realizados sobre esta enfermedad, destacando aquellos que intentan establecer factores pronóstico y detectar las posibles complicaciones orgánicas antes de que sean potencialmente mortales.

Todo esto, junto con la elevada incidencia de esta enfermedad en nuestra área de trabajo, ha sido determinante para la elección de la babesiosis canina como objeto de nuestro estudio, en el que nos hemos planteado los siguientes objetivos:

1. Estudiar en perros de la Comunidad Autónoma de Galicia que llegan infectados por *Babesia canis* al Hospital Veterinario Universitario Rof Codina, la existencia de una posible predisposición racial, así como la importancia del sexo, la aptitud o el ambiente de estos animales a la hora de contraer la enfermedad.
2. Determinar qué parámetros clínicos y laboratoriales comúnmente utilizados en la clínica veterinaria, aportan mayor información para el diagnóstico y valoración del estado clínico del paciente en la babesiosis canina.
3. Establecer la idoneidad de la clasificación propuesta para la babesiosis por Jacobson y Clark (1994) en Sudáfrica para valorar clínicamente a los animales infectados por *Babesia canis* en Galicia.
4. Conocer la evolución de la enfermedad en perros infectados por *Babesia canis* tratados con dipropionato de imidocarb y determinar su correspondencia con los distintos parámetros clínicos, laboratoriales y ecográficos, así como su relación con el grado de complicación de la enfermedad.
5. Estimar la utilidad de la ecografía para valorar las lesiones producidas por la babesiosis en los principales órganos abdominales, comprobando si éstas guardan relación con los distintos parámetros hemáticos y séricos, así como con las diferentes complicaciones de la enfermedad que presenten los pacientes infectados por *Babesia canis*.

Este trabajo ha sido realizado con un total de 111 perros, 104 perros de diferentes razas, edades y sexo, diagnosticados de babesiosis en la consulta de Medicina Interna del Hospital Veterinario Universitario Rof Codina de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Santiago de Compostela, y 7 perros Beagle adultos, que han sido utilizados como grupo control.

Los criterios para la inclusión de los pacientes en este estudio fueron, en primer lugar, diagnosticar la babesiosis mediante la identificación del parásito *Babesia canis* en extensiones sanguíneas y, en segundo lugar, disponer de una hematología y parámetros bioquímicos indicativos de la función hepática y renal, que permitieran, junto con los hallazgos de la exploración clínica, una adecuada clasificación de los animales en tres grupos: babesiosis complicada, no complicada grave y no complicada leve, basándose en el modelo establecido por Jacobson y Clark (1994) que asume los criterios propuestos por la OMS para la malaria. Hemos descartado todos aquellos pacientes que hubieran padecido alguna enfermedad que pudiera ser la responsable de alguna de las lesiones encontradas y que desvirtuarían nuestros resultados.

Antes de proceder al tratamiento específico de la enfermedad con dipropionato de imidocarb, a estos animales se les realizó la exploración clínica completa, la medición de la presión arterial, el hemograma, el perfil bioquímico y la ecografía abdominal.

Todos los perros enfermos fueron tratados con un fármaco babesicida específico, el dipropionato de imidocarb, a dosis de 5 mg/kg por vía SC, previa administración de atropina, 0,05 mg/kg por vía SC, 15-20 minutos antes de la inyección del agente babesicida. También se instauró un tratamiento sintomático en todos aquellos casos en los que fue necesario, si bien en ningún caso se recurrió a la utilización de glucocorticoides. A los 14 días de este primer tratamiento se administró una segunda dosis de dipropionato de imidocarb, siguiendo la misma pauta que en la anterior.

Coincidiendo con esta segunda dosis del tratamiento babesicida, se repitieron todas las pruebas efectuadas el primer día en todos aquellos pacientes en los que fue posible.

De los 104 perros con babesiosis de este estudio 70 pertenecían a 27 razas diferentes, mientras que 34 eran mestizos, lo que supuso un 32,69% del total. Las razas más representadas fueron el Bóxer y el Setter Inglés, con un 9,61% cada una. En cuanto al sexo y al ambiente en el que vivían los animales, fueron los machos y de ambiente rural o de caza los que representaron un mayor porcentaje en nuestro estudio.

En relación al grado de complicación de la enfermedad, 26 perros de nuestro estudio padecían babesiosis complicada, 22 babesiosis no complicada grave y 56 babesiosis no complicada leve. De los 26 perros con babesiosis complicada 11 presentaban fallo hepático, 7 fallo renal, 3 signos neurológicos, 4 fallo renal y fallo hepático y 1 edema pulmonar y fallo hepático.

Hemos encontrado que los perros que padecen babesiosis no complicada grave son significativamente más jóvenes que los pacientes que pertenecen a los otros dos grupos, mientras que el grupo que presentó la media de edad más elevada fue el de los animales con babesiosis complicada. Esta diferencia puede atribuirse a que son estos animales más viejos los más proclives a sufrir algún tipo de fallo orgánico que ocasione la complicación de la babesiosis. Con respecto a la supervivencia, nuestros resultados ponen de manifiesto que son los animales más viejos, con una edad superior a los 7 años, y los menores al año de edad los que presentan un mayor riesgo de muerte ante la babesiosis canina.

La fiebre fue uno de los signos clínicos más habituales en la babesiosis canina, si bien suele tratarse de aumentos moderados de la temperatura corporal que no requieren un tratamiento específico. Los valores más elevados en el momento del diagnóstico de la enfermedad aparecieron en los pacientes con babesiosis no complicada leve, aunque en el momento de la revisión prácticamente todos los perros presentaron valores normales para este parámetro. Es importante destacar que 4 de los 5 pacientes que mostraron hipotermia no lograron superar la infección, lo que supone un 80%. Por

lo tanto, podemos afirmar que la hipotermia puede ser un factor pronóstico negativo importante ya que su presencia está relacionada con una alta tasa de mortalidad.

La presión arterial sistólica presentó valores muy variables, aunque la hipotensión fue el hallazgo más destacable. Estos resultados confirman una clara tendencia a la hipotensión en los animales afectados de babesiosis y coinciden con los encontrados en estudios anteriores realizados por Jacobson *et al.* (2000) en Sudáfrica, donde la hipotensión fue el hallazgo más frecuente y ésta era más severa conforme aumentaba la gravedad de la enfermedad. En el momento de la revisión todos los perros presentaron valores normales para la presión arterial, lo que confirma que los perros con babesiosis recuperan los valores normales de la presión arterial tan sólo con el tratamiento babesicida. Nuestros resultados también confirman la utilidad de la presión arterial a la hora de emitir un pronóstico en los perros afectados de babesiosis, puesto que 7 de los 10 pacientes con babesiosis complicada (70%) y 2 de los 7 pacientes con babesiosis no complicada grave (29%), que presentaban valores de hipotensión para la presión arterial sistólica, murieron a pesar del tratamiento. Además, los únicos dos pacientes que tenían hipertensión (>200 mmHg) tampoco lograron superar la infección debido a un fallo renal.

El reflejo doloroso a la palpación abdominal se manifestó en el 66,3% de los pacientes, lo que indica que el dolor abdominal es un hallazgo a tener muy en cuenta en aquellos perros sospechosos de padecer babesiosis. Aún siendo un hallazgo común en todos los grupos en el momento del diagnóstico, fue más frecuente en los pacientes con babesiosis complicada y no complicada grave, aunque su presencia disminuyó de forma drástica en la reevaluación de los pacientes.

Los resultados hematológicos mostraron que la mayoría de los pacientes presentaban anemia, con un descenso del recuento total de eritrocitos, del valor hematocrito y de la concentración de hemoglobina en todos los grupos estudiados. Estos descensos, junto con los valores medios de los índices eritrocitarios y el valor absoluto medio de reticulocitos corregido, confirman que se trata de una anemia normocítica, normocrómica y arregenerativa, característica del cuadro agudo de la enfermedad provocada por *Babesia canis*. Es importante señalar que ninguno de los animales estudiados tenía evidentes signos de regeneración.

La babesiosis se considera unánimemente causante de anemia, si bien, en ocasiones esta anemia no está presente en el momento del diagnóstico. En nuestro estudio, 90 perros (86,5%) presentaban anemia en la primera exploración, siendo el grado de anemia muy diferente en los tres grupos. Es importante destacar el elevado porcentaje de perros con anemia grave que hemos encontrado en nuestro estudio, presente en los 22 animales pertenecientes al grupo de babesiosis no complicada grave y en 10 de los pacientes con babesiosis complicada, representando un 30,8% del total de los perros examinados.

Los valores de la serie roja mostraron un incremento importante el día de la revisión de los animales con respecto al momento del diagnóstico, sin embargo, todavía encontramos perros con anemia en los tres grupos, aunque en ningún caso se trataba de anemias graves. Los resultados medios de los índices eritrocitarios de los tres grupos nos llevan a afirmar que a los 14 días del tratamiento, la anemia continúa siendo normocítica, normocrómica y no regenerativa. No hemos encontrado ninguna relación entre la presencia y gravedad de la anemia y el pronóstico de la babesiosis.

En lo referente a la serie blanca decir que la leucopenia está presente en un 51,9% de los perros de nuestro estudio y que la neutropenia apareció en un 26%, mientras que la leucocitosis sólo se observó en un 6,71% de nuestros pacientes. Estos resultados son similares a los descritos por distintos autores consultados, confirmando el escaso valor clínico y pronóstico de la serie blanca en esta enfermedad. Hay que destacar que los valores medios más bajos corresponden al grupo de animales con babesiosis no complicada leve, mostrando diferencias significativas con los otros dos grupos. Los valores medios de la serie blanca recuperan la normalidad en los tres grupos estudiados en el momento de la reevaluación de los animales. Por lo tanto, nuestros hallazgos, junto con los descritos en otros estudios, sugieren que con el tratamiento babesicida la mayoría de los pacientes recuperan los valores normales de la serie blanca en un período inferior a las dos semanas.

En relación al recuento plaquetario, la trombocitopenia fue uno de los principales hallazgos de este estudio. Es importante señalar que tan sólo 3 de los animales presentaron un recuento de plaquetas normal, por lo que el porcentaje de trombocitopenia en el estudio fue del 97,1%. Un 26,9% de los perros del estudio tenían trombocitopenia grave, no obstante, ninguno de los pacientes mostró síntomas asociados a ésta. Nuestros resultados difieren de los observados por otros autores, ya que no hemos encontrado ninguna relación entre la gravedad de la enfermedad y el grado de la trombocitopenia. A los 14 días del tratamiento babesicida, los valores medios del recuento plaquetario fueron completamente normales en los tres grupos y ninguno de los pacientes mostró trombocitopenia.

En cuanto a los índices plaquetarios, tanto el MPV como el PDW se encuentran en los tres grupos por encima de su valor normal, lo que nos indica que siempre se trata de una trombocitopenia regenerativa, la cual es característica de la babesiosis, y que sigue patente incluso en el momento de la revisión de los pacientes.

Por lo que respecta a los parámetros bioquímicos, las concentraciones medias de la fosfatasa alcalina, de la alanina aminotransferasa y de la bilirrubina total están dentro de los intervalos considerados normales en el perro, hecho que coincide con otros estudios realizados en distintas zonas de Europa. En consecuencia, podemos afirmar que la valoración global de la posible existencia de un daño hepático mediante la utilización de estos parámetros bioquímicos no ha aportado datos relevantes en este estudio. En el análisis por grupos, como cabía esperar, hemos encontrado

diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con babesiosis complicada y no complicada tanto para los valores de la fosfatasa alcalina como de la alanina aminotransferasa, ya que los valores de estas enzimas han sido utilizados para establecer estos grupos. No obstante, debemos resaltar que hemos encontrado una mayor afección hepática en el grupo de los pacientes con babesiosis complicada de nuestro estudio que en estudios anteriores realizados en Sudáfrica. Si bien, debemos de tener en cuenta que, aunque estas enzimas son muy sensibles para detectar enfermedades hepatobiliares, su falta de especificidad dificulta la interpretación de las anomalías.

En lo que respecta a los valores de la bilirrubina total, únicamente hemos encontrado diferencias significativas entre los pacientes con babesiosis complicada y no complicada leve. Según la bibliografía, los niveles séricos de bilirrubina están muy elevados en perros afectados de babesiosis con anemia grave. Sin embargo, esta elevación no se observó en nuestros resultados ya que los valores medios de bilirrubina en el grupo de pacientes con babesiosis no complicada grave no estaban alterados.

En el momento de la revisión ninguno de los animales presentaba hepatopatía, según los criterios que hemos utilizado para la clasificación de los pacientes. Además, todos los perros mostraron valores normales de la bilirrubina total y ninguno de ellos mostró ictericia. Estos resultados ponen de manifiesto la gran capacidad de regeneración hepática y el escaso valor de los parámetros utilizados a la hora de emitir un pronóstico en estos pacientes. Sin embargo, la elevación de la concentración sérica de la bilirrubina total sí que parece estar asociada al aumento de la mortalidad en pacientes con babesiosis complicada, ya que 7 de los 9 perros que presentaron un incremento de la misma en el momento del diagnóstico de la babesiosis no sobrevivieron, lo que supone un 78%; por lo que este parámetro sí puede ser utilizado como índice pronóstico en los pacientes con babesiosis.

En este trabajo hemos detectado niveles medios del BUN elevados, mientras que los valores medios de creatinina se mantuvieron dentro del rango normal. No obstante, en ningún caso este aumento aislado es útil para valorar una insuficiencia renal en perros con babesiosis.

Hemos encontrado diferencias significativas tanto para la concentración de BUN como para la de creatinina entre los pacientes con babesiosis complicada y los otros dos grupos estudiados. En nuestro estudio 11 de los perros con babesiosis complicada mostraron valores de creatinina sérica por encima de su valor normal, lo que representa un 42,3%, porcentaje muy superior al obtenido en otros estudios. De estos 11 pacientes, 7 murieron antes de la revisión, lo que pone de manifiesto que el fallo renal es una complicación grave y con frecuencia mortal de la babesiosis canina.

Los niveles plasmáticos medios para la glucemia y las proteínas totales han sido normales tanto en los resultados generales como en cada uno de los grupos establecidos. En este estudio sólo un perro mostraba hipoglucemia (0,9%), mientras que 13 (12,5%) mostraron valores de glucosa

superiores al rango establecido como normal, suponiendo un 30,8% en el grupo de pacientes con babesiosis complicada, un 9,1% en los casos de babesiosis no complicada grave y un 5,4% en los pacientes con babesiosis no complicada leve. A pesar de que todos los perros mostraron niveles normales en el momento de la revisión, debemos resaltar el hecho de que 6 de los 13 pacientes, 5 con babesiosis complicada y 1 con babesiosis no complicada grave, que presentaron hiperglucemia en el momento del diagnóstico de la enfermedad murieron antes de los 14 días establecidos para la realización de la revisión y el único perro que presentaba hipoglucemia se recuperó sin problemas. Por lo tanto, nuestros resultados están en total desacuerdo con otros estudios realizados en Sudáfrica, en los que se exponía que la hiperglucemia, al contrario que la hipoglucemia, no era un buen indicador de la gravedad de la babesiosis.

Los valores de las proteínas totales han sido muy variables en todos los grupos, estando significativamente aumentadas en el grupo de pacientes con babesiosis complicada. Sin embargo, no se observa relación entre las variaciones de este parámetro y la mortalidad producida por el hemoparásito *Babesia canis* en nuestra zona de trabajo.

En la actualidad, la información disponible sobre los cambios ecográficos observados en los órganos abdominales de perros con babesiosis es muy limitada. En nuestro estudio las lesiones esplénicas son las más frecuentes ya que las presentaron un 87,5% de los perros. Siempre se trataba de lesiones de carácter difuso que podían conllevar un aumento del tamaño del órgano, así como cambios en la ecotextura o en la ecogenicidad. Las alteraciones esplénicas fueron un hallazgo muy frecuente en todos los grupos, si bien, al igual que en el caso de las lesiones hepáticas y renales, su prevalencia fue mayor en el grupo de pacientes con babesiosis complicada. Debemos señalar que la mayoría de los animales recuperan la apariencia ecográfica normal del bazo a los 14 días de la administración del tratamiento babesicida. Dada la elevada frecuencia con la que el bazo se ve afectado en todos los grupos estudiados, el hecho de encontrar estas lesiones puede orientarnos hacia el diagnóstico presuntivo de esta enfermedad, al ser uno de los hallazgos más constantes en la babesiosis canina, sin embargo, no será de utilidad a la hora de estimar la gravedad del proceso o de emitir un pronóstico del mismo.

Las lesiones hepáticas fueron detectadas en 21 de los 72 perros (29,2%) y en todos los casos consistían en lesiones difusas que conllevaban un aumento del tamaño hepático y/o una disminución de su ecogenicidad. Probablemente la hepatomegalia de nuestros pacientes se deba a la afección del sistema monocítico-fagocitario que puede causar un considerable aumento del tamaño hepático, junto con esplenomegalia y/o linfadenopatías. En función de los resultados de nuestro estudio, podemos afirmar que aquellos animales que presentaban elevaciones considerables de los parámetros bioquímicos alanina aminotransferasa y fosfatasa alcalina poseían una elevada probabilidad de mostrar lesiones hepáticas, pero por otro lado, aunque estos parámetros fueran normales no se podría

descartar la presencia de estas lesiones. En el momento de la reevaluación de estos pacientes, aunque en ninguno de ellos se detectó fallo hepático en función de los resultados de la bioquímica sérica, la detección de lesiones mediante ecografía pone de manifiesto que el hígado de estos animales todavía no se ha recuperado por completo a los 14 días del tratamiento babesicida.

Las lesiones renales aparecieron en 34 (47,2%) de los animales de nuestro estudio. Todas las lesiones encontradas en estos perros eran bilaterales, mostrando un incremento de la ecogenicidad sin que se apreciaran cambios en la ecotextura, el tamaño o la arquitectura renal. La prevalencia de estas lesiones ha sido mucho mayor en el grupo de pacientes con babesiosis complicada. En función de nuestros resultados podemos afirmar que el hecho de observar en los análisis bioquímicos de estos perros valores del BUN y de la creatinina sérica por encima de los normales, es indicativo de que estos animales presentarán lesiones renales diagnosticables ecográficamente. No obstante, como estas lesiones también aparecieron en 6 de los pacientes del grupo con babesiosis complicada que no presentaban fallo renal, en 7 de los perros con babesiosis no complicada grave y en 13 con la forma no complicada leve de la enfermedad, en los cuales los valores de creatinina séricos estaban dentro de la normalidad, no podemos descartar la existencia de lesiones renales en aquellos pacientes con analítica normal. En la reevaluación las lesiones renales presentaron una frecuencia mucho más baja que en el momento del diagnóstico, apareciendo únicamente aumento de la ecogenicidad renal en uno de los animales de cada grupo.

En lo que se refiere al estudio hemodinámico renal, los valores medios, tanto de los índices de resistencia como de los índices de pulsatilidad, estaban levemente incrementados, si bien, no alcanzaban los límites establecidos como patológicos. En este estudio no hemos encontrado diferencias significativas para estos índices entre ambos riñones. Es importante destacar el hecho de que los valores más elevados de estos índices aparecieron en los perros con babesiosis no complicada grave, lo que se puede atribuir a la grave anemia presente en estos animales y a la hipoxia renal secundaria que, a su vez, origina una constricción de los vasos sanguíneos. Los pacientes de este grupo presentaron diferencias significativas con respecto al grupo control incluso en el momento de la reevaluación de los pacientes. La presencia de unos índices de resistencia elevados está relacionada con una peor evolución, por lo que nuestros resultados aconsejan la utilización de estos índices, junto con la exploración ecográfica en modo B, por ser indicadores más sensibles que las pruebas bioquímicas para la detección precoz de una posible alteración renal en la babesiosis canina.

A continuación exponemos las conclusiones a las que hemos llegado en este estudio:

En este trabajo confirmamos la importancia de la aptitud y del ambiente en el que viven los perros a la hora de contraer la babesiosis. Sin embargo, no hemos encontrado predisposición racial o de sexo.

Los hallazgos más característicos de la infección por *Babesia canis* en nuestra zona de trabajo han sido el aumento de la temperatura corporal, el dolor abdominal, la anemia moderada, la trombocitopenia marcada y constante, la concentración de nitrógeno ureico sanguíneo elevada y la esplenomegalia.

En lo referente al grado de complicación de la babesiosis en nuestros pacientes, hemos encontrado como complicaciones más frecuentes el fallo hepático y el fallo renal.

La ecografía abdominal permite evaluar las lesiones producidas por esta enfermedad a nivel esplénico, hepático y renal, observándose en este estudio un mayor número de lesiones en el grupo de pacientes con babesiosis complicada. Las lesiones más frecuentes en todos los grupos han sido las alteraciones esplénicas.

A su vez, las lesiones esplénicas y hepáticas diagnosticadas mediante ecografía no guardan relación con el grado de complicación de la babesiosis ni permiten establecer el pronóstico de la enfermedad. Sin embargo, sí existe correlación entre las lesiones renales y el grado de complicación de la babesiosis. Además, según nuestros resultados, la ecografía en modo B junto con los índices de resistencia y pulsatilidad renales son indicadores más sensibles que las pruebas bioquímicas para la detección precoz de las alteraciones renales en la babesiosis canina.

Nuestro estudio refleja que la evolución de estos pacientes infectados por *Babesia canis* y tratados con dipropionato de imidocarb está condicionada por la edad, la temperatura corporal, los valores de la presión arterial sistólica y las concentraciones séricas de creatinina, bilirrubina total y glucosa, por lo que debe tenerse muy en cuenta el valor de estos parámetros a la hora de emitir un pronóstico.

La tasa de mortalidad de los perros infectados por *Babesia canis* en nuestra zona de trabajo ha sido similar a la encontrada recientemente en otros países europeos y en Sudáfrica. Esta tasa ha sido muy superior en el grupo de pacientes con babesiosis complicada, siendo el fallo renal la complicación que provoca una mayor mortalidad.

Finalmente, podemos concluir que la utilización de la clasificación propuesta por Jacobson y Clark (1994) es válida en perros infectados por *Babesia canis* en nuestro entorno y permite establecer el pronóstico en cada paciente.

9.2. SUMMARY

Babesiosis is a tickborne disease of worldwide significance caused by the hemoprotozoan parasite of the genus *Babesia*, which is capable of inducing disease in a wide range of vertebrate hosts. The classical clinical presentation of canine babesiosis is a febrile and haemolytic syndrome with apparent anaemia and hemoglobinuria. However, the severity of this illness is very variable depending mainly on the species of *Babesia* involved. The symptoms of the disease can be mild, or can cause severe disease which can lead to the death of the animal.

An important feature of canine babesiosis is the fact that it is an emerging disease, with many new cases being reported in different areas of Europe, the United States, Africa, Australia and Japan. Disease transmission has been facilitated by the international transport of dogs and by climate change which favour the presence of vectors in regions which were previously free of them. It has also gained importance due to the fact that it is a serious zoonosis and has been established as a potential model for the study of malaria in humans. For these reasons, further studies are being carried out on this disease. One of these studies tried to establish diagnostic criteria and to identify potential systemic complications before the disease becomes lethal.

All these factors, together with the high incidence of the disease in the region in which we work, were decisive in choosing canine babesiosis as the object of our study. The aims and objectives of this study are as follows:

1. To analyse potential risk factors such as breed, gender, habitat or life style in dogs with a confirmed positive diagnosis of *Babesia canis* coming to the Rof Codina University Veterinary Hospital, located in the Autonomic Region of Galicia.
2. To determine the most useful clinical and laboratory parameters, commonly used in small animal practice, for the diagnosis and evaluation of the patient with canine babesiosis.
3. To establish the suitability of the babesiosis classification put forward by Jacobson and Clark (1994) in South Africa for the clinical evaluation of animals infected by *Babesia canis* in Galicia.
4. To study the progression and outcome of the disease in dogs infected by *Babesia canis* treated with imidocarb dipropionate, its relationship with the different clinical, laboratory, ultrasound findings and the degree of complication of the disease.
5. To evaluate the usefulness of abdominal ultrasonography as a tool for the assessment of the lesions caused by *Babesia canis*. To study the correlation of these findings with the haematological and biochemical parameters, as well as the degree of complications of the disease.

One hundred and eleven dogs were included in this study. One hundred and four dogs were diagnosed with *Babesia canis* by the Internal Medicine Service at the Veterinary Teaching Hospital Rof Codina of the University of Santiago de Compostela, and seven Beagle dogs were used as controls.

The criteria for the inclusion of patients in the study were, firstly, the confirmed diagnosis of babesiosis through the identification of the *Babesia canis* parasite within erythrocytes on blood smear analysis and, secondly, the availability of haematological and biochemical parameters to assess liver disease and kidney function. All animals included in the study had a full physical examination performed. The patients were classified in one of the following groups: complicated babesiosis, severe uncomplicated babesiosis and mild uncomplicated babesiosis, based on the model established by Jacobson and Clark (1994) which adopted the criteria recommended by the WHO for malaria. Dogs that suffered from any other disease were excluded.

At the time of presentation and before the treatment was begun, all patients had a physical exam, haematology, serum biochemistry, and abdominal ultrasound performed, as well as their blood pressure recorded.

All dogs infected with babesiosis were treated with a specific babesicide medication, imidocarb dipropionate (5 mg/kg/SC). Atropine (0,05 mg/kg/SC) was administered 15 to 20 minutes prior to the injection of the babesicide compound. Additional symptomatic treatment was also given, as needed. None of the patients received corticosteroids as part of their treatment.

A follow up appointment was scheduled fourteen days after the first dose of imidocarb dipropionate was administered. At this point, all tests performed at the time of presentation were repeated and a second dose of imidocarb dipropionate was administered following the same protocol as in the first treatment.

Of the 104 dogs with babesiosis, 70 belonged to 27 different breeds, while 34 were cross breeds (32,69% of the total). The most commonly presented breeds were Boxer and English Setter, each breed representing 9,61% of the total. As for gender, habitat and life style, an increased risk of acquiring the disease was found in male dogs living in the countryside and in male hunting dogs.

In our study, 26 dogs suffered from complicated babesiosis, 22 from severe uncomplicated babesiosis, and 56 from mild uncomplicated babesiosis. Of the 26 dogs with complicated babesiosis 11 presented with liver failure, 7 with renal failure, 3 with neurological signs, 4 with renal and liver failure, and one with pulmonary oedema and liver failure.

Dogs that suffered from severe uncomplicated babesiosis were significantly younger than the patients which belonged to the other two groups. The highest mean age was found in the group of animals with complicated babesiosis. This difference could be due to the fact that older animals are

more likely to suffer organ failure as a complication of babesiosis. In our study, dogs older than seven years or younger than one year of age had a higher risk of death when infected by *Babesia canis*.

Pyrexia was one of the most common clinical signs observed in canine babesiosis, although it was usually a moderate increase in body temperature and required no specific treatment. The highest body temperatures at the time of diagnosis were found in animals with mild uncomplicated babesiosis. However, at the time of the follow up appointment the majority of the patients were normothermic. It is important to outline that 4 of the 5 animals that suffered from hypothermia died, which accounts for an 80% of death rate in hypothermic patients. Therefore, hypothermia at the time of presentation in patients diagnosed with canine babesiosis may be an important negative prognostic factor and its presence is associated with a high risk of mortality.

The systolic blood pressure recorded at first presentation showed very variable results. However, hypotension was the most noteworthy and common finding. Our results agree with the findings of previous studies carried out by Jacobson *et al.* (2000) in South Africa, where low blood pressure was the most common finding. This condition became more severe as the severity of the disease increased. However, all dogs had normal blood pressure values at the time of the follow up appointment, confirming that dogs with babesiosis recover normal arterial pressure values after the babesicide treatment. Seven of the ten patients with complicated babesiosis (70%) and two of the seven patients with severe uncomplicated babesiosis (29%) which presented with systolic arterial hypotension died in spite of the treatment. Furthermore, the only two patients who presented with hypertension (>200 mmHg) did not survive the infection and died due to kidney failure. Therefore, arterial pressure may be a useful tool to assess prognosis in patients diagnosed with canine babesiosis.

Pain on abdominal palpation was observed in 66,3% of the patients at the time of presentation, making abdominal pain a common finding in dogs with suspected babesiosis. Although this was a finding common to all groups, it was more frequent in patients with complicated and severe uncomplicated babesiosis. However, its presence was markedly decreased at the time of the follow up evaluation of the patients.

Anaemia was a very common finding in the three groups of dogs studied diagnosed with babesiosis, with a decrease in the total red blood cell count, hematocrit and the concentration of haemoglobin. The anaemia was classified as normocytic, normochromic and non regenerative based on the average values of the erythrocyte indices and the corrected absolute mean value of reticulocytes. These finding are characteristic of the acute clinical presentation of the disease caused by *Babesia canis*. It is important to note that none of the animals in the study showed clear signs of regeneration.

Babesia canis is considered as a parasite capable of causing anaemia, although, in some cases the anaemia is not present at the time of diagnosis. In our study, 90 dogs (86,5% of the total) were

anaemic at the time of presentation, although the degree of anaemia markedly differed between groups. It is important to highlight the high percentage of dogs with severe anaemia that we found in our study, present in 22 animals belonging to the severe uncomplicated group and in 10 of the patients with complicated babesiosis, making up 30,8% of the dogs examined.

The red blood cells values had significantly increased at the time of the follow up of the animals when compared with results at the time of the diagnosis. However, the anaemia continued to be present in some of the dogs from the three groups, although none of the patients had severe anaemia. At the follow up check, based on the average results of the erythrocyte indices of the three groups, the anaemia continued to be normocytic, normochronic and non regenerative. We found no correlation between the presence and severity of the anaemia and the prognosis of babesiosis.

In our study, the results of the white blood cells counts revealed the presence of leukopenia in 51,9% of the dogs and neutropenia in 26%, while leukocytosis was only present in 6,71% of our patients. These results are similar to those described by different authors, confirming the poor diagnostic and prognostic value of the white blood cells counts in this disease. The lowest mean values corresponded to the group of animals with mild uncomplicated babesiosis, showing significant differences when compared with the other two groups. The mean values of the white blood cells had returned to the reference ranges in the three study groups at the time of follow up of the animals. Therefore, our findings together with those described in other studies, suggest that following the babesicide treatment the majority of patients recover normal white blood cells values within two weeks.

Thrombocytopenia was one of the main finding of the study with only 3 of the patients showing a normal platelet count. The percentage of thrombocytopenic animals in our study was 97,1% and 26,9% had severe thrombocytopenia. However, none of the patients exhibited typical signs of thrombocytopenia. We found no correlation between the severity of the disease and the degree of thrombocytopenia. These results differ from those reported by other authors. At the time of the follow up appointment, 14 days after the first dose of the babesicide treatment was administered, the platelet counts were within the reference range in the three groups and none of the patients were thrombocytopenic.

The MPV and the PDW in the three groups were above their reference ranges at presentation and the thrombocytopenia was classified as regenerative based on these platelet indices. A regenerative thrombocytopenia is a common finding in babesiosis and it continued to be present at the time of the follow up appointment.

The mean values of alkaline phosphatase, alanine aminotransferase and total bilirubin were within the reference ranges. This agrees with other studies carried out in Europe. Therefore, the

assessment of liver damage using these biochemical parameters did not add any relevant data in this study. However, we found statistically significant differences in the alkaline phosphatase and alanine aminotransferase values between the patients with complicated and uncomplicated babesiosis, as these enzymes were used to set up the groups. Nevertheless, in our study we found greater hepatic involvement in the group of patients with complicated babesiosis than in previous studies carried out in South Africa. However, we must note that although these enzymes are very sensitive for detecting hepatobiliary diseases, their lack of specificity makes the interpretation of the anomalies difficult.

We have found significant differences between patients with complicated and mild uncomplicated babesiosis in the values of total bilirubin. According to the literature, serum bilirubin levels are markedly increased in dogs with severe anaemia affected by babesiosis. However, this increase was not noted in our results as the mean values of total bilirubin in the group of patients with severe uncomplicated babesiosis were not increased.

At the time of follow up none of the animals presented with liver disease according to the criteria that we used for patient classification. Furthermore, all the dogs had normal values of total bilirubin and none of them presented with jaundice. This could have been as a result of the great regenerative capacity of the liver or because of the poor prognostic value of these parameters in patients with babesiosis. However, the increase in serum concentration of total bilirubin does appear to be associated with an increase in the mortality rate in patients with complicated babesiosis, as 7 out of the 9 (78%) dogs that presented hyperbilirubinemia at the time of diagnosis did not survive. Therefore, this parameter may be useful as a prognostic index in patients with babesiosis.

In this study we found increased mean levels of BUN, whereas the mean levels of creatinine were within the normal range. Nevertheless, the increase of only the BUN cannot be used to assess renal insufficiency in dogs with babesiosis.

We found significant differences for BUN and creatinine concentrations between the patients with complicated babesiosis and the other two groups studied. In our study 11 of the dogs with complicated babesiosis (42,3%) had serum creatinine values above their normal range. This percentage is much higher than those reported in other studies. Of these 11 patients, 7 died before the follow up. Therefore, renal failure is a severe and often fatal complication in canine babesiosis.

The mean plasma levels of glucose and total proteins were normal in both the overall results and in each of the established groups. In this study only one dog presented with hypoglycemia (0,9%) while in 13 (12,5%) the glucose values were above the reference range; this represents 30,8% of the patients with complicated babesiosis, 9,1% of the dogs with severe uncomplicated babesiosis and 5,4% with mild uncomplicated babesiosis. Nevertheless, all the dogs had normal levels at the time of the follow up examination. It is important to highlight that 6 of the 13 patients, 5 with complicated

babesiosis and one with severe uncomplicated babesiosis that presented with hyperglycemia at the time of diagnosis, died before the end of the follow up appointment. However, the dog that presented with hypoglycemia recovered without problems. Therefore, our results do not agree with previous studies carried out in South Africa in which it was reported that hyperglycemia was not a good indicator of the severity of the babesiosis.

Total protein values were very variable in all the groups, and were significantly increased in the group of patients with complicated babesiosis. However, no relationship was noticed between the variations of this parameter and the mortality rate of *Babesia canis* in our region.

To date, information available on the ultrasonographic changes of the abdominal organs of dogs with babesiosis is very limited. In our study splenic lesions were the most frequently observed, as they were present in 87,5% of the dogs. They were always diffuse lesions, consisting of organomegaly, as well as changes in the echotexture or the echogenicity. Splenic lesions were a common finding in all the groups although, as well as the lesions of the liver and kidney, their incidence was greater in the group of patients with complicated babesiosis. It is important to highlight that the majority of the animals showed a normal splenic ultrasonographic appearance fourteen days after administering the babesicide treatment. Given the high incidence of splenic abnormalities found in all the groups studied, the presence of ultrasonographic splenic lesions could help in formulating a presumptive diagnosis of this disease, as it is one of the most constant findings in canine babesiosis. Nevertheless, it is of no use for estimating the severity of the disease or elaborating a prognosis.

Liver lesions were found in 21 of the 72 dogs (29,2%) consisting of diffuse lesions with hepatomegaly and/or a reduction in parenchymal echogenicity. The hepatomegaly found in our patients is probably due to the activation of the reticular endothelial system causing an increase in liver size together with splenomegaly and/or lymphadenopathy. Based on the results of our study, those animals which had increased values of alanine aminotransferase and alkaline phosphatase were more likely to have liver lesions. However, even when these parameters were within their normal ranges, the presence of these lesions could not be ruled out. Despite not detecting liver damage at the time of follow up in any of these patients based on serum biochemistry results, the presence of ultrasonographic lesions suggested that the liver in these animals had not completely recovered 14 days after babesicide treatment.

Kidney lesions appeared in 34 (47,2%) of the animals of our study. All the lesions were bilateral, with an increase in echogenicity and no detectable changes in the echotexture, size, or architecture of the kidneys. The prevalence of these lesions was markedly increased in the patients with complicated babesiosis. Our results show that having increased BUN and creatinine serum values is indicative of the presence of renal lesions which can be diagnosed by ultrasound. Nevertheless, these ultrasonographic lesions were also present in six of the patients with complicated babesiosis with no

renal failure, 7 of the dogs with severe uncomplicated babesiosis and 13 with the mild uncomplicated form, which had serum creatinine values within normal range. Therefore, we cannot rule out the presence of kidney damage in those patients with normal biochemical values. The presence of renal lesions was markedly decreased at the time of follow up compared with the time of diagnosis, and only one patient in each group presented an increased renal echogenicity.

The mean values of the renal resistance indices and pulsatility indices were mildly increased, although, they did not reach the limits established as pathological. In this study we did not find significant differences for these indices between each kidney. It is important to highlight that the higher values of these indices were present in the dogs with severe uncomplicated babesiosis. This can be due to the severe anaemia present in these animals and the secondary renal hypoxia that in turn can cause constriction of the blood vessels. There were significant differences between the patients in this group and the control group even at the time of the follow up appointment. An increase in the resistance indices has been related to a worse outcome. Therefore, our results suggest the use of these indices together with the B mode ultrasound exam, as these indicators are more sensitive than biochemical tests for the early detection of renal damage in canine babesiosis.

The conclusions of this study are as follows:

In this study, we have confirmed the importance of the dog's lifestyle and environment as a risk factor to acquire babesiosis. However, no breed or gender predisposition was found.

In our work area, pyrexia, abdominal pain, moderate anaemia, severe and persistent thrombocytopenia, an increased concentration of BUN and splenomegaly, were the clinical findings of canine babesiosis most frequently reported.

The complications of canine babesiosis reported most frequently were hepatic and renal failure.

Abdominal ultrasound allowed us to assess the lesions induced by this disease in the spleen, liver and kidney. In this study, we noted a higher number of lesions in the group of patients with complicated babesiosis. Splenic abnormalities were the most commonly found lesion in all groups.

In turn, splenic and liver lesions diagnosed by ultrasonography showed no correlation with the degree of complication of the babesiosis nor did they allow us to establish a prognosis for the disease. However, there was a correlation between the renal lesions and the degree of complication of babesiosis. Also, according to our results, B mode ultrasound together with renal resistive and pulsatility indices were more sensitive indicators than biochemical tests for the early detection of kidney damage in canine babesiosis.

Our study showed that the outcome of patients infected by *Babesia canis* and treated with imidocarb dipropionate is influenced by age, body temperature, systolic blood pressure and serum concentrations of creatinine, total bilirubin and glucose, so these parameters must be taken into consideration when formulating a prognosis.

The mortality rate of dogs infected by *Babesia canis* in our region was similar to that found recently in other European countries and in South Africa. The rate was far higher in the group of patients with complicated babesiosis and the complication which caused the greatest mortality rate was kidney failure.

Finally, we can conclude that the use of the classification put forward by Jacobson and Clark (1994) is valid for dogs infected by *Babesia canis* in our region. In addition, it allowed us to establish the prognosis for each patient.